

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID
FACULTAD DE MEDICINA
Departamento de Microbiología



TESIS DOCTORAL

Microbacterias en pacientes de riesgo : Pacientes con Sida

MEMORIA PARA OPTAR AL GRADO DE DOCTOR
PRESENTADA POR

María del Carmen Martín Scapa

Madrid, 2015

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

Facultad de Medicina

Departamento de Microbiología

TP
1982
455



* 5 3 0 9 8 7 8 7 8 X *
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE

x - 53 - 117480 - 7

**MICROBACTERIAS EN PACIENTES DE RIESGO
PACIENTES CON SIDA**

M.^a del Carmen Martín Scapa

Madrid, 1988

Colección Tesis Doctorales. N.º 455/88

© M.^a del Carmen Martín Scapa

Edita e imprime la Editorial de la Universidad
Complutense de Madrid. Servicio de Reprografía
Noviciado, 3 - 28015 Madrid
Madrid, 1988
Ricoh 3700
Depósito Legal: M-36274-1988

UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID.

FACULTAD DE MEDICINA.

**MICOBACTERIAS EN PACIENTES DE RIESGO. PACIENTES
CON SIDA.**

Tesis presentada para obtener el título de

Doctor en Medicina y Cirugía

por

M^a del Carmen Martín Scapa.

Dirigida por:

Dra Isabel Cour Boveda.

Lugar de realización:
Servicio de Microbiología
Hospital General Gregorio Marañón.
Madrid 1988



DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA
FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
28040 MADRID

D. JUAN J. PICAZO DE LA GARZA DIRECTOR DEL DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA
I DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID

CERTIFICA: Que el presente trabajo titulado "MICOBACTERIAS EN PACIENTES
DE RIESGO. PACIENTES CON SIDA" presentado por D^a. M^a del
Carmen Martín Scapa ha sido realizada bajo la dirección
de la Profesora Titular D^a. Isabel Cour Bóveda, considerándola
apto para ser admitido como Tesis Doctoral.

Y para que así conste, a los efectos pertinentes
expido y firmo el presente certificado en Madrid a catorce
de abril de mil novecientos ochenta y ocho.



Juan J. Picazo

Fdo.: Prof. Juan J. Picazo de la Garza



DEPARTAMENTO DE MICROBIOLOGIA
FACULTAD DE MEDICINA
UNIVERSIDAD COMPLUTENSE
28040 MADRID

M^a ISABEL COUR BOVEDA, PROFESOR TITULAR DE MICROBIOLOGIA DE LA FACULTAD DE MEDICINA DE LA UNIVERSIDAD COMPLUTENSE DE MADRID,

CERTIFICA: Que el presente trabajo titulado "*MICOBACTERIAS EN PACIENTES DE RIESGO. PACIENTES CON SIDA*" presentado por D^a M^a del Carmen Martín Scapa, ha sido realizada bajo mi dirección, considerándolo apto para ser admitido como Tesis Doctoral.

Y para que así conste, a los efectos pertinentes expido y firmo el presente certificado en Madrid a catorce de abril de mil novecientos ochenta y ocho.



Fdo: M^a Isabel Cour Boveda.

Con gran cariño dedico este trabajo:
Angelines, Patricia y Esperanza

AGRADECIMIENTOS .

AGRADECIMIENTOS .

A la Dra Isabel Cour Boveda directora de esta tesis, profunda conocedora del tema, que con su gran experiencia y capacidad científica ha hecho posible la realización de esta tesis doctoral.

Al Dr Emilio Bouza Santiago, Profesor Jefe del Servicio de Microbiología Clínica del Hospital General "Gregorio Marañón", inspirador de este trabajo.

Al Dr Casals Roman, Profesor de Microbiología de la Facultad de Córdoba, que me ofreció su ayuda cuando este estudio era sólo un proyecto.

Al Dr Ortega Calderon, Jefe del Laboratorio del Hospital Victoria Eugenia, gran conocedor y entusiasta de las Micobacterias y que me inició en su estudio.

A la Dra March Arbos por su participación en el estudio de sensibilidades de las cepas aisladas del género Mycobacterium .

Al Dr Ortega Nuñez, Profesor Jefe del Servicio de Medicina Interna, por su cooperación en la realización de este trabajo.

Al Dr Jaime Cosin, médico adjunto del Servicio de Medicina Interna, gran colaborador en este estudio al proporcionarme los datos clínicos de los pacientes aquí estudiados.

Al Departamento de Anatomía Patológica del Hospital que han puesto a mi disposición los datos histológicos necesarios.

- V -

A Dña Rosario Madero Jarabo, adjunto de la Ciudad Sanitaria de La Paz, Sección de Bioestadística, que con su asesoramiento y ayuda ha contribuido en el estudio estadístico.

Al Servicio de Microbiología Clínica del Hospital, que de alguna manera han contribuido en la realización de este trabajo, y con mención especial a mis compañeros Dra Guirado Fernández y Dr Romero Vivas.

Al Dr Martínez Hernández por su asesoramiento en el trabajo de informática.

A los Técnicos de la sección de Micobacterias: Dña Concha Marcos, Dña M^a Jesus Sagüés y Dña Dolores Verduguez, que han colaborado en el aislamiento e identificación de las Micobacterias.

A Dña M^a Teresa Sanchez Hernández, D. Antonio Fernández-Yañez y D. Mariano Rojo, que han participado en el mecanografiado de esta tesis y en trabajos de fotografía.

A todo el personal, médico y paramédico, del Hospital que han contribuido en la realización de este trabajo.

INDICE .

INDICE .

	Página
I. INTRODUCCION.....	1.
I.1 Recuerdo histórico del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida (SIDA).....	3.
I.2 Epidemiología del SIDA.....	5.
I.3 Virus de la inmunodeficiencia humana.....	6.
I.4 Alteraciones inmunológicas del SIDA.....	10.
I.5 Clasificación clínica de la infección por HIV.....	11.
I.6 Definición y Criterios diagnósticos del SIDA.....	15.
I.7 Microorganismos asociados a la infección por HIV. Diagnóstico y Tratamiento.....	17.
7.1 Parásitos.....	17.
7.2 Hongos.....	23.
7.3 Virus.....	24.
7.4 Infecciones bacterianas.....	26.
I.8 Infección por Micobacterias en pacientes infectados por HIV.....	27.
II. JUSTIFICACION Y OBJETIVOS DE TRABAJO.....	32.
II.1 Justificación.....	33.
II.2 Objetivos del trabajo.....	35.
III. MATERIAL Y METODOS.....	37.
III.1 Material.....	38.
1.1 Población estudiada.....	38.
1.2 Protocolo de estudio.....	39.
III.2 Métodos.....	42.
2.1 Diagnóstico de Micobacterias.....	44.
2.1.1 Obtención de muestras.....	44.
2.2 Microscopía y Tinciones	45.

- VIII -

2.2.1 Tinción de fluorescencia.....	47.
2.2.2 Tinción con carbol-fuchina.....	48.
2.3 Medios de cultivo.....	51.
2.3.1 Medios diferenciales.....	52.
2.3.2 Medios selectivos.....	52.
2.4 Procesamiento de muestras clínicas.....	54.
2.5 Diagnóstico por laboratorio de Micobacterias.....	57.
2.5.1 Conducta a seguir con un cultivo crecido.....	57.
2.5.2 Identificación del Grupo Tuberculoso.(Tbc).....	59.
2.5.3 Resumen de la identificación del Grupo Tbc.....	65.
2.5.4 Identificación del grupo MOTT.....	67.
2.5.5 Identificación del grupo MOTT a partir de un cultivo crecido.....	76.
2.5.6 Resumen de pruebas requeridas en la identificación de las micobacterias.....	87.
2.6 Diagnóstico de infectados por M. tuberculosis.....	90.
2.7 Normas de seguridad en la Sección de Micobacterias.....	91.
III.3 METODOLOGIA ESTADISTICA.....	93.
IV. RESULTADOS.....	97.
IV.1 Población estudiada	98.
IV.2 Epidemiología.....	101.
IV.3 Supervivencia de pacientes con SIDA.....	106.
IV.4 Infección por micobacterias.....	106.
IV.5 Valor del Mantoux como marcador epidemiológico.....	130.
IV.6 Valoración de los hallazgos histológicos.....	131.
IV.7 Supervivencia de pacientes con SIDA y tuberculosis.....	130.
V. DISCUSION.....	146.
VI. CONCLUSIONES.....	164.

VII. ADDENDUM.....	168.
--------------------	------

VIII. BIBLIOGRAFIA.....	192.
-------------------------	------

I. INTRODUCCION

I. INTRODUCCION.

A lo largo de la historia la humanidad ha sufrido enfermedades, algunas de las cuales, por su magnitud y su amplia diseminación han sido consideradas, según su grado de expansión como endemias, epidemias o pandemias.

Cuando las pandemias tenían un carácter devastador que diezmaba las poblaciones transcendían, incluso a la literatura, bajo el término de "plagas", como fueron: la peste en la Edad Media, la tuberculosis en el siglo XIX, etc.....

Los grandes avances logrados en la llamada "era de los antibióticos" a mediados de nuestro siglo han conseguido, si no erradicar, sí controlar hasta unos ciertos límites las enfermedades bacterianas responsables de algunas pandemias.

A pesar de estos logros, la especie humana se ve amenazada por enfermedades causadas por nuevos microorganismos para los que no se dispone de medios terapéuticos adecuados.

El ejemplo actual más dramático de ello ha sido la aparición del Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida. (SIDA).

Este nuevo síndrome, descrito inicialmente en EE.UU., se ha extendido prácticamente de forma universal y representa, en la actualidad, uno de los principales problemas sanitarios del mundo occidental.

El SIDA es la manifestación clínica más grave que es capaz de producir el recientemente denominado Virus de la Inmunodeficiencia Humana (HIV) (1,2).

Como consecuencia de la infección viral, se producen graves alteraciones inmunológicas que predisponen a infecciones oportunistas, que pueden ser debidas a protozoos, hongos, bacterias, virus o parásitos, así como a la presentación de neoplasias poco frecuentes (3-15).

En nuestro medio, la incidencia de esta enfermedad aumenta progresivamente y presenta características peculiares en cuanto a la epidemiología y a la etiología de las infecciones oportunistas. Dentro de ellas las infecciones debidas a micobacterias presentan manifestaciones clínicas especiales y poco frecuentes.

Este trabajo pretende resumir las complicaciones infecciosas que aparecen en los pacientes adultos afectados por el SIDA y con mención especial a los métodos diagnósticos y evolución de la infección por micobacterias.

I.1 Recordo histórico del SINDROME DE LA INMUNODEFICIENCIA ADQUIRIDA, SIDA.

Es un hecho cierto que hasta finales de los años 70 la neumonía por *Pneumocystis carinii*, (*P. carinii*), la esofagitis por *Candida* o la infección diseminada por *Herpes simplex* así como formas agresivas de determinadas neoplasias, linfoma de Burkitt o sarcoma de Kaposi, nunca habían sido diagnosticadas en personas con ausencia de enfermedades de base, y es a comienzo de la presente década cuando estos procesos aparecen en varones homosexuales en Nueva York y California, zonas donde es muy elevada la homosexualidad y la drogadicción intravenosa, IV, (4-8,10,11,14).

Del estudio retrospectivo que realizó el Center for Disease Control, (CDC), se desprende que los primeros casos de brotes epidémicos de sarcoma de Kaposi comunicados a ese centro, así como las primeras consultas realizadas para el tratamiento con Pentamidina en neumonías por *P. carinii*, tuvieron lugar en los años 1.978-1.979 (3,4).

La aparición de un mayor número de casos obligó al CDC a definir al nuevo síndrome con unas características de presentación predominante en homosexuales previamente sanos, en drogadictos IV y en un grupo de población emi-

grante, que tenían inmunodeficiencias graves y con una mortalidad casi del 100% en los 18-24 meses siguientes a su presentación. En aquel momento aún no se tenían pruebas definitivas sobre el agente causal (16-18).

Esta nueva enfermedad indujo a que el CDC estableciese un programa de trabajo en búsqueda de la posible etiología de la misma así como al estudio tanto retrospectivo como prospectivo de los casos afectados. Está claro que en los EE.UU este nuevo síndrome se está comportando en esos momentos como una epidemia (19,20).

Desde la aparición del síndrome, o SIDA, fueron postuladas diferentes etiologías, incluyendo agentes virales, tales como el virus de la Hepatitis B, Epstein-Barr (EBV) y Citomegalovirus (CMV) e incluso sustancias químicas como el Nitrito de amilo (21).

La sospecha dentro de los agentes transmisibles, hacia la etiología viral, iba tomando una mayor consistencia, basándose en los siguientes argumentos:

- Se comportaba como una epidemia
- La limitación geográfica inicial se desvanecía sufriendo una rápida expansión, implicando incluso a otros continentes.
- Su aparición en un núcleo de población promiscua donde es fácil su transmisibilidad.
- Comienza aparecer en personas transfundidas y en individuos heterosexuales, así como en los hijos de afectados por el síndrome, a pesar de no presentar ningún grupo de los citados factores de riesgo, hasta entonces descritos, para adquirir la enfermedad (22-25).

El conocimiento de la distribución geográfica de los casos afectados, por un lado, y el de los grupos de riesgo por otro, contribuyó a aclarar datos sobre su etiología y

epidemiología.

1.2. EPIDEMIOLOGIA. DEL SIDA

La epidemiología de la infección por HIV ha sido bien estudiada e incluso fué conocida antes de que el agente causal del síndrome fuese identificado (26-28).

Se sabe que la transmisión tiene lugar por tres vías: vía hemática, contacto sexual y vía materno-fetal; ésta puede ocurrir bien en el útero o por contaminación con las secreciones cérvico-vaginales durante el parto (22,25,29-35).

En EE.UU el factor de riesgo más importante para la adquisición del SIDA, aproximadamente el 73%, es el grupo de pacientes homo o bisexuales, seguido por los adictos a drogas I V, aproximadamente el 17%. Las personas que tengan contactos sexuales, con los grupos anteriores, representan también un grupo de riesgo para la adquisición del síndrome, así como sus descendientes.(26,27).

Aún no se ha demostrado transmisión hídrica, alimentaria ni aérea (21).

La infección por HIV no es sinónimo de padecer el SIDA ya que es necesario, según su definición, la aparición de la infección oportunista. No se conoce bien el número de pacientes infectados por HIV que han desarrollado el síndrome, pero se piensa que sea alrededor del 15-30%. (36).

Entre los factores que pueden asociarse a un mal pronóstico, y que pueden luego evolucionar hacia el síndrome, se encuentran según un estudio reciente, los siguientes (37):

- .- Descenso de la cifra de linfocitos T cooperadores.

- .- Aumento de los Linfocitos T supresores.

- .- Título bajo de anticuerpos (Ac) frente a HIV.
- .- Título elevado de Ac frente a CMV .
- .- Historia de relaciones sexuales con afectados por SIDA.

El Antígeno, Ag, viral se ha aislado no sólo en semen, lo que justificaría su transmisión sexual y la inseminación artificial, sino también en lágrimas y saliva (26,38,39).

Están apareciendo comunicaciones, sólo de forma esporádica, de seroconversiones entre personal asistencial de hospitales, bien con un origen traumático o por el personal al cuidado de estos pacientes (40,41).

En España, y a diferencia de lo que ocurre en EE.UU, el mayor grupo de riesgo entre nuestra población está representado por los adictos a drogas IV.

1.3 VIRUS DE LA INMUNODEFICIENCIA HUMANA (HIV)

El marcado tropismo para los Linfocitos T, con acción selectiva a la población CD₄, cuadro que se vió anteriormente en la llamada Leucemia /linfoma Humana de células T, (HTLVI), y en una variante de leucemia de células peludas, (HTLVII), es lo que llevó a considerar a este virus de la familia de los retrovirus, como el primer candidato responsable de la enfermedad (21).

En 1982 Laboratorios con experiencia en aislamientos de HTLV de pacientes con leucemias de células T comienzan a trabajar en estos pacientes afectados por SIDA; y empleando técnicas similares para estimular el crecimiento de células linfoides y la inversión de la Transcriptasa evidencian, de esta forma, la existencia de un retrovirus en pacientes afectados de esta enfermedad.

Pero es en el año 1983 cuando el agente etiológico del SIDA fue aislado por primera vez por Luc Montaigner, en el Instituto Pasteur (Paris). Aisló un retrovirus a partir de los Linfocitos T periféricos de un paciente afecto de Linfadenopatía generalizada y le denominó "Virus asociados a la Linfadenopatía, (LAV) (43).

De forma casi simultánea Gallo y Levy, en el Laboratorio de Biología del Cáncer de Bethesda en EE.UU, aislaron un virus similar en pacientes con SIDA que le denominaron "Virus Linfotrópico de células T humanas, (HTLVIII), y virus relacionado con SIDA, (ARV) (44,45).

Es en este momento cuando, uniendo ambas denominaciones, se le conoce como HTLVIII/LAV.

Este nuevo virus presentaba características similares con los retrovirus ya conocidos HTLVI y HTLVII, y aunque todos ellos tienen acción inmunosupresora la más grave la presentaba el último virus aislado.

La estructura molecular de este virus, involucrado en el síndrome, es semejante a la de los retrovirus. Son virus RNA de cadena única, provisto de envoltura y dotado de una inversotranscriptasa que es capaz de transcribir su genoma de RNA en DNA, el cual se integra dentro del genoma de la célula huésped, en una forma llamada "provirus". Puede permanecer allí sin que los genes se expresen hasta que las células no se dividan; y al no formarse proteínas víricas, el sistema inmunitario no reconoce, ni elimina, las células infectadas. De esta forma, el virus integrado permanece en "silencio" dentro de las células siendo así más inaccesible a la acción del sistema inmune (46-48)

El retrovirus contiene un genoma en el que están presentes 3 genes: uno que codifica las proteínas virales internas del núcleo, gag, el de la polimerasa o inverso transcriptasa, pol y el de la glicoproteína de la cubierta, env.

Además de estos genes citados, que se encuentran en otros retrovirus, en el HTLVIII existen junto a ellos, 4 genes que son: sor, 3'orf, tat y art cuya función no se

conoce con exactitud pero que pueden codificar proteínas reguladoras accesorias de la replicación viral (49-54).

Se ha mostrado que los genes *src* y *3'orf* codifican la síntesis de proteínas inmunogénicas "in vivo", pero aparentemente no son requeridos para la patogenicidad o la replicación viral. El gen *tat*, (que designa el transactivador de la transcripción), induce altos niveles de la expresión genómica después de la activación inicial, y estimula enormemente la tasa de producción de proteínas víricas; de esta forma, contribuye eficazmente a la replicación vírica al aumentar la translación de los RNA mensajeros en proteínas. Ello representa una adaptación que permite al virus una replicación muy rápida una vez que tiene la oportunidad de hacerlo.

El gen *tat* puede acentuar las acciones patogénicas del virus al ser crítico para su replicación y podría constituir una aproximación terapéutica nueva y eficaz en el SIDA.

El gen *art*, (transactivador de la antirrepresión), se superpone parcialmente a los genes "*tat* y *env*" y codifica para el segundo transactivador, ya que activa la expresión de las proteínas "*gag* y *env*" del HTLVIII (55).

Tabla 1.

A partir de 1986 el agente etiológico del SIDA, ha sufrido una nueva denominación, la de Virus de la Inmunodeficiencia Humana (HIV), propuesta esta última por los subcomités del Comité Internacional para la Taxonomía de Virus como el nombre más apropiado para el retrovirus implicado como agente causal en el SIDA (1,2).

Otros virus han sido descubiertos en relación con el SIDA tanto en animales como en humanos, y de mención especial son el "Simian T-lymphotropic Virus" tipo III (STLV-III) que produce un cuadro semejante al SIDA humano en dichos animales (56-58).

Al mismo tiempo se aisló otro virus en Africa Central en pacientes con SIDA que ha sido denominado HIV tipo II, y en la pruebas serológicas presenta reacciones cruzadas con el retrovirus HTLV III (59-60 bis).

TABLA 1.

TABLA DEL GENOMA DEL HIV.

GEN	CODIFICA PARA	FUNCION
Gag	Componentes estructurales del core	Replicación vírica
Env	Componentes estructurales de la envuelta	Replicación vírica
Pol	Transcriptasa inversa	Replicación vírica
Sor	Proteínas accesorias	Desconocida
3'orf	Proteínas accesorias	Desconocida
Tat	Proteínas accesorias	Estimulación de la expresión de las proteínas víricas
Art	Proteínas reguladoras	Activación de las proteínas gag,env

I.4 ALTERACIONES INMUNOLÓGICAS DEL SIDA .

Las alteraciones en el sistema inmune descritas en estos pacientes y atribuibles a la acción del HIV, afecta tanto a la respuesta celular como a la humoral.

En la alteración de la respuesta celular hay una deplección selectiva de la población de Linfocitos T-CD₄ cooperadores/inductores y un aumento, o cifras normales, de los Linfocitos T-CD₈ supresores/citotóxicos, que a veces pueden estar también disminuídos en pacientes con neutropenias.

La molécula que define a ese subgrupo de linfocitos T sirve de receptor para el virus. Pero la molécula CD₄ no es privativa de los linfocitos T, también se encuentra, en grados diferentes, en los linfocitos transformados por el virus Epstein-Barr, en los monocitos y en los macrófagos. En todas estas células puede realizarse la replicación viral, y al tener este mismo receptor células del SNC, se ha detectado la replicación viral en regiones del encéfalo, en macrófagos, microglia y neuronas (61).

Se sabe que los Linfocitos cooperadores/inductores tienen una importancia básica en la regulación de la inmunidad, y su inhibición compromete secundariamente la función de otras células como son: la respuesta citotóxica a parásitos, (siendo ésta de importancia crítica en las defensas del huésped contra patógenos virales), y también en la quimiotaxis por alteración en la función del monocito que se manifiesta con descenso de la misma.

La mayoría de estos pacientes muestran leucopenias y neutropenias, de forma principal en los pacientes con pródromo febril del SIDA o con infección oportunista como cuadro normal. Estas leucopenias pueden exacerbarse cuando comienzan con el tratamiento bien con trimetoprim-sulfametoxazol o pentamidina ante infecciones por P. carinii (52).

El SIDA, es, en consecuencia, el resultado del colapso de las funciones de todas estas células y ello conlleva al fracaso en el control del desarrollo de infecciones y tumores (55).

La alteración a la respuesta humoral, descrita por Lane y atribuible a este virus, está en relación con la disminución de la capacidad en la formación de Ac frente al Ag viral (62,63).

También se ha demostrado, en la afectación por este virus, un aumento de las inmunoglobulinas séricas, IgG e IgA y de los inmunocomplejos circulantes, así como de Ac antilinfocíticos.

Las anormalidades en la inmunidad humoral son de gran importancia en el SIDA y pueden contribuir a la mayor frecuencia con que, en estos enfermos, se presentan las bacteriemias ya que las respuestas primarias y secundarias a la formación de Ac son deficientes (36).

I.5 CLASIFICACION CLINICA DE LA INFECCION POR HIV .

Ya se ha comentado que la infección por HIV no siempre significa padecimiento del SIDA, pero sí es necesaria para su posterior aparición y entonces sería la complicación más grave de esta infección viral (36).

Las personas infectadas por HIV pueden comportarse como portadores asintomáticos, pero siempre a través de contactos sexuales, transfusiones o vía maternofoetal.

Algunas de estas personas asintomáticas están en un periodo latente entre la infección y la aparición de la enfermedad y cuando ésta aparece puede ser mínima, como es en el caso del síndrome de la linfadenopatía generalizada, (LG), moderadamente grave, como ocurre con el complejo relacionado con SIDA (CRS), o grave, que cursa con la aparición del SIDA.

Las manifestaciones de la infección por HIV pueden ser muy variadas, desde ser una fase aguda a no existir ninguna, por lo que resulta imprescindible el aislamiento del virus en los tejidos del huésped o bien su visualización.

Pero estas técnicas no están al alcance de la mayoría de los laboratorios por lo que debe considerarse también como infectado a todo individuo que se le detecte Ac frente a HIV (21).

El CDC dividía las manifestaciones de la infección por HIV en 4 grupos designados por números romanos del I al IV y se aplicaba sólo a los infectados por HIV (64).

Esta clasificación nos servía para seleccionar a los pacientes en un grupo determinado, pero aunque durante la evolución del proceso existiese una resolución de los síntomas los pacientes no podrían ser de nuevo reclasificados en un grupo anterior.

GRUPO I. Incluye pacientes con infección inicial de HIV, identificada por laboratorio y que posteriormente serán reclasificados en otro grupo según la evolución de la clínica. Es la fase aguda de la enfermedad y es imprescindible una seroconversión de título de Ac frente a HIV, ya que el aislamiento sólo del virus no es lo suficientemente sensible ni específico.

GRUPO II. Serán incluidos los pacientes asintomáticos, que estén infectados por HIV, y que pueden ser subclasificados según los hallazgos hematológicos, (recuento de linfocitos y plaquetas), o inmunológicos (recuento de Linfocitos cooperadores, CD₄ y supresores CD₈) causados por esta infección y atribuibles a este virus.

GRUPO III. Incluye pacientes con linfadenopatía generalizada, pero sin hallazgos que puedan permitir clasificarlos en el grupo IV.

La Linfadenopatía generalizada se define como la presencia de adenopatías palpables de 1 cm o mayores en dos o más áreas extrainguinales, que persistan al menos durante tres meses y en ausencia de enfermedad diferente a la infección por HIV que lo explique.

GRUPO IV. Incluyen pacientes con síntomas y signos clínicos de infección por HIV, pero distintos a la Linfadenopatía generalizada. Según estos hallazgos los pacientes pueden ser incluidos en uno de los subgrupos siguientes:

SUBGRUPO A. Enfermedad constitucional. Que se definirá por la presencia de uno o más de los siguientes síntomas:

- 1.- Pérdida de más de 7 Kg de peso, o más del 10% del peso corporal.
- 2.- Fiebre superior a 38 °C, continua o intermitente de más de un mes de duración.
- 3.- Diarrea.
- 4.- Cansancio o fatiga.
- 5.- Sudoración nocturna.

En la presencia de estos síntomas no puede haber otra explicación que la infección por HIV.

SUBGRUPO B. Enfermedad neurológica, que se definirá por uno o más de los siguientes síntomas:

- 1.- Mielopatía o neuropatía periférica.
- 2.- Encefalopatía, complejo demencia SIDA.

Síntomas que se presentan con ausencia de otra enfermedad que los justifique distinta a la infección por HIV.

SUBGRUPO C. Infecciones secundarias, que comprende las especificadas por el CDC propias del SIDA y otras enfermedades infecciosas secundarias. Comprende dos categorías:

CATEGORIA C-1. Comprende las infecciones incluidas en la definición del SIDA dada por el CDC, estas infecciones son:

- Neumonía por *Pneumocystis carinii*.
- Toxoplasmosis cerebral.
- Criptosporidiosis crónica.
- Isosporiasis crónica.
- Strongyloides stercoralis*.
- Candidiasis esofágica, bronquial o pulmonar.
- Criptococosis.
- Histoplasmosis diseminada.
- Infección por *M. avium-intracellulare* o *M. kansasii*.
- Infección por CMV.
- Infección diseminada o mucocutánea crónica por Herpes simplex.
- Leucoencefalopatía multifocal progresiva.

CATEGORIA C-2. Incluye pacientes con enfermedades infecciosas relacionadas aunque no diagnósticas de SIDA, comprendiendo:

- Leucoplaquia oral peluda.
- Bacteriemia recurrente a *Salmonella*.
- Infecciones por Varicela Zoster.
- Nocardiosis.
- Tuberculosis.
- Candidiasis oral.

SUBGRUPO D. Comprende pacientes con neoplasias secundarias, incluyen:

Sarcoma de Kaposi.
Linfoma no Hodgkin.
Linfoma cerebral primario.

SUBGRUPO E. Incluye a pacientes con otras condiciones que resulten de la infección por HIV, ej neumonitis intersticial linfoide crónica, trombocitopenia y otros.

También comprende enfermedades en principio no relacionadas con la infección por HIV cuya evolución clínica puede verse afectada por la coexistencia de la infección viral.

A finales del año 1987 el CDC, y ya concluido el estudio de los pacientes que comprende este trabajo, ha realizado una nueva clasificación de las infecciones oportunistas que definen el síndrome. Por su interés se transcribe, esta clasificación íntegra, en el apartado "ADDENDUM".

I.6.SIDA: DEFINICION Y CRITERIOS DIAGNOSTICOS

El concepto de SIDA, dado por el CDC, es para todo paciente que al menos una vez en su vida sufre de una infección oportunista o Sarcoma de Kaposi la cual no es la causa de la profunda inmunodeficiencia que presenta.

Esta definición se complementa con la lista de enfermedades infecciosas y tumorales que van a poner de manifiesto los defectos de la inmunidad celular y a su vez incluye la infección por HIV.

La muerte en estos pacientes suele ocurrir en los dos años siguientes al del diagnóstico del SIDA. Puede deberse, bien a la ausencia de tratamiento efectivo frente a estas infecciones sistémicas, al germen infectante en sí o a la severa alteración de la respuesta celular que presentan no apta para controlar la infección y que, a su vez,

les impide responder al tratamiento (36,65).

Desde que se describieron los primeros casos de SIDA en 1981, hasta la primera definición que se hizo del mismo, en el año 1985, y las nuevas infecciones oportunistas incluidas en últimas revisiones de la definición del síndrome, todas realizadas por el CDC, (64,66,66 bis), los criterios diagnósticos han sufrido varias modificaciones en relación con las infecciones oportunistas. En un primer momento fueron P. carinii y sarcoma de Kaposi, en el momento actual nuevos microorganismos bacterias, virus, hongos y parásitos están involucrados (4-7,11,14,16,17,36,67-70).

Las infecciones ocurren, casi de manera constante, en los pacientes con SIDA representando la causa más frecuente de muerte, y por el momento constituyen uno de los pocos puntos posibles de combatir en la enfermedad.

Algunos de estos microorganismos, relacionados con las infecciones oportunistas, no son habitualmente patógenos y solo causan enfermedad en individuos con evidente inmunodeficiencia celular.

Otros de estos microorganismos, que cursan con infecciones bien delimitadas en sujetos con inmunidad celular normal, en estos pacientes inmunocomprometidos, IC, causan enfermedad diseminada.

Hay un grupo de estos microorganismos que son constantemente patógenos aunque, en este tipo de paciente IC por infección por HIV, originan con gran frecuencia cuadros clínicos muy severos (36).

En relación con las pruebas serológicas, para detectar Ac y Ag en pacientes infectados por HIV, nuevas técnicas, más sensibles y específicas, están sustituyendo a las hasta ahora utilizadas (71,72).

Las actuales pruebas de ELISA detectan IgG frente a Ag virales, pero trabajos recientes, han puesto de manifiesto, que algunos pacientes desarrollan inicialmente una elevación del título de Ac IgM que incluso pueden ser los

Únicos presentes durante largos periodos de tiempo (73).

Al mismo tiempo, ha surgido la posibilidad de detectar Ag viral. Las pruebas realizadas han demostrado que los pacientes asintomáticos muy pocas veces contienen Ag demostrables mientras que en los sintomáticos pueden existir poco después de la infección y antes de la seroconversión.

Potencialmente la presencia de Ag en ausencia o con bajos niveles de Ac, podría tener el valor de indicar un mal pronóstico de la enfermedad (74).

A partir de este momento describiré las infecciones oportunistas que se presentan en pacientes que van a ser diagnosticados del SIDA.

1.7 MICROORGANISMOS ASOCIADOS A LA INFECCION POR HIV

7.1 Parásitos

TOXOPLASMA GONDII. Es un parásito perteneciente a la subclase Coccidia que puede existir en el ser humano esencialmente en dos formas: taquizoitos y quistes. Los taquizoitos o trofozoitos son células jóvenes, en crecimiento y su presencia suele indicar actividad de la infección.

Por el contrario, los quistes son formas maduras o de resistencia que contienen en su interior un número muy variable de bradizoitos.

En circunstancias favorables, como en el caso de la inmunodepresión, los quistes se rompen y, transformándose en taquizoitos, dan lugar a una reactivación de la enfermedad.

Toxoplasma es causa conocida de patología, tanto en el huésped normal (generalmente oligo o asintomática) como en el IC que se asocia generalmente con linfadenopatía o retinocoroiditis. Las manifestaciones neurológicas de la toxoplasmosis, descritas de manera ocasional tanto en pa-

cientes normales como en IC, se han hecho enormemente frecuentes en pacientes con SIDA (65,75-78).

Clínicamente la toxoplasmosis puede presentarse también como manifestación inicial del SIDA o como complicación última en pacientes muy deteriorados.

El cuadro puede comenzar con fiebre, confusión y otros signos poco precisos, pero en la mayoría de las ocasiones hay datos neurológicos focales incluyendo crisis convulsivas y manifestaciones motoras y sensoriales (36)

La toxoplasmosis cerebral puede presentarse como una encefalitis difusa, con lesiones focales, únicas o múltiples, o con manifestaciones meníngeas.

El diagnóstico es difícil ya que los datos radiológicos, serológicos y de cultivo son inespecíficos. En un primer momento la TAC craneal puede ser normal pero, por lo general, especialmente si se utiliza contraste, aparecen lesiones únicas o múltiples que captan contraste homogéneamente o en anillo y que son indiferenciables de las producidas por otros procesos infecciosos y tumorales (36)

La punción lumbar suele demostrar un líquido cefalorraquídeo anormal con pleocitosis moderada, de predominio linfocítico, proteínas elevadas y glucorraquia baja o normal, comparable al de otras meningitis crónicas.

El diagnóstico serológico de toxoplasmosis tiene poco valor en pacientes con SIDA ya que la mayoría tienen Ac tipo IgG con títulos bajos y los Ac tipo IgM sólo están presentes en una proporción mínima de casos.

Por otro lado la demostración de Ac en LCR puede estar evidenciando los Ac séricos.

Tampoco el aislamiento de *Toxoplasma* en cultivos celulares es suficiente ya que podemos estar cultivando sencillamente quistes latentes de un paciente (79,80).

Por todo ello, el diagnóstico de toxoplasmosis del SNC en el SIDA es por histología y requiere la realización de biopsia cerebral; siendo preciso demostrar taquizoitos del parásito en las lesiones necróticas con vasculitis (36)

El tratamiento consiste en la combinación de pirimetamina y sulfadiazina, pero al bloquear ambos fármacos la síntesis de folato se recomienda la administración concomitante de Ácido fólico, y hacer controles de los recuentos de hematíes, leucocitos y plaquetas.

También puede utilizarse, por su mayor comodidad, la asociación de pirimetamina y sulfadoxina (Fansidar).

Si por efectos adversos, u otras razones, no pudieran administrarse las combinaciones anteriores, puede utilizarse clindamicina y espiromicina. Las alternativas a la pirimetamina y sulfadiazina son fármacos cuya eficacia no ha sido probada.

Las frecuentes recidivas, tras los ciclos terapéuticos obligan a mantener tratamiento supresor indefinidamente (36).

CRYPTOSPORIDIUM.

Cryptosporidium es un protozoo que pertenece a la subclase Coccidia que guarda relación con *Toxoplasma gondii* e *Isospora belli*.

Hasta 1982 la Criptosporidiasis era una enfermedad que afectaba a animales y sólo de forma excepcional al hombre. A partir de ese año se demuestra que puede ser causa frecuente de diarreas en pacientes con o sin sintomatología previa. En pacientes IC puede cursar como cuadro asintomático o bien, con diarrea acuosa pero de resolución rápida y espontánea (36)

En pacientes con SIDA la Criptosporidiasis es una causa frecuente de diarreas graves, de curso prolongado y no responden al tratamiento lo que contribuye a la morbilidad y desnutrición de estos pacientes e indirectamente a su mortalidad (81-88).

El método diagnóstico de rutina es la visualización de oocistos en heces mediante "técnicas de ácido-alcohol resistencia", Ziehl modificado, o Kinyoun, en algunas ocasiones han sido visualizados en técnicas tintoriales ruti-

narias para búsqueda de micobacterias. También pueden utilizarse tinciones de yodo (89,90).

Las técnicas serológicas no son fiables para su diagnóstico.

En su tratamiento no se reconoce ningún fármaco efectivo; la espiramicina presenta una actividad dudosa, y como medidas complementarias deben incluirse corrección de dietas, soporte de electrolitos y fármacos antidiarreicos (36).

ISOSPORA BELLI

Isospora belli es un protozoo intestinal que se diferencia de otros miembros de la subclase de Coccidia por la morfología y el gran tamaño de sus ooquistes (36).

La diarrea crónica causada por *Isospora* ha sido incluida en la lista de enfermedades que ponen de manifiesto defectos de la inmunidad celular y se comporta clínicamente de un modo similar a lo descrito para el *Cryptosporidium*, e incluso empleando las mismas técnicas de tinción (91-93).

Los pacientes con isosporiasis responden bien al tratamiento con cotrimoxazol, metronidazol y la combinación de pirimetadina-sulfadiazina pero hay un alto porcentaje de recidivas (36,94).

PNEUMOCYSTIS CARINII .

La neumonía por *P. carinii*, sola o concomitante con otro patógeno oportunista, es la más frecuente en pacientes con SIDA.

Es una infección de los alveolos pulmonares que produce una neumonía intersticial particularmente asociada

con pacientes gravemente desnutridos e IC (36).

A partir de 1981 se ha asociado con pacientes con SIDA y se calcula en más del 60% el porcentaje de pacientes con esta enfermedad que desarrollan neumonía por *P. carinii* a lo largo de su evolución (3-5,7,12,36,65).

En la radiografía de tórax se observan infiltrados intersticiales, que suelen ser bilaterales, de comienzo perihiliar y expansión centrífuga, que puede asociar datos de afectación intersticial y del espacio aéreo.

En ocasiones los pacientes con SIDA pueden mostrar una afección mucho menor e incluso tener una radiografía de torax considerada por muchos como normal, pero que es posible en estas circunstancias demostrar la presencia de *P. carinii* en el pulmón por histología (36,95-97).

El diagnóstico de neumonía por *P. carinii* sólo lo establece con certeza la demostración del microorganismo en el tejido pulmonar o en las secreciones respiratorias, en presencia de un cuadro clínico compatible.

Ni la demostración de Ag o Ac ni el aislamiento *P. carinii* en cultivo pueden ser considerados en el momento actual como pruebas diagnósticas (36,98-100).

Las muestras más representativas para el diagnóstico son la biopsia pulmonar o bien la combinación de broncoscopia con lavado broncoalveolar y cepillado, o bien, biopsia transbronquial (101-106).

Los esputos, aspirados traqueales y aspirados gástricos son de baja sensibilidad (36,107).

Las tinciones empleadas en el laboratorio para su visualización son muy diversas pero las más utilizadas son la metenamina de plata y el azul de toluidina O, técnicas que tiñen la pared del quiste y hacen buen contraste con la tinción de fondo; se consideran muy recomendadas como tinciones de rutina.

Como técnica más sencilla y que lleva menos tiempo su realización es la de metenamina de plata modificada por Gomori (108).

La confirmación de la visualización por estas tinciones se puede realizar por las de Giemsa, Wright o azul de metileno polícromo que visualizarán esporozoitos y trofozoitos (109,110).

El tratamiento, que debe instaurarse nada más confirmarse la visualización del parásito e incluso antes si su sospecha fuese muy fuerte, puede hacerse con la combinación de trimetoprim y sulfametoxazol, (co-trimoxazol), durante un tiempo no inferior a las 3 semanas.

Al contrario de lo que ocurre en otros grupos de pacientes IC, los casos de SIDA tienen una alta incidencia de recidivas y de reacciones adversas, del tipo de rash, fiebre o leucopenia que obliga a suspender el tratamiento cuando reciben co-trimoxazol (111-116).

Un fármaco alternativo al anterior es el metasulfonato de pentamidina y la duración tampoco debe ser inferior a las 3 semanas e igualmente tiene una alta incidencia de efectos adversos con incluso nefrotoxicidad y hepatotoxicidad. (117-121).

Se han realizado ensayos terapéuticos con otros tipos de fármacos, con la alfadifluorometilornitina (DMFO), un fármaco ya utilizado en el tratamiento de la tripanosomiasis africana, y la diaminodifenilsulfona y sus derivados, utilizado en el tratamiento de la lepra. La combinación dapsona y trimetoprim no ha resultado más eficaz. En la actualidad se realizan ensayos con aplicaciones de Pentamidina en aerosolizaciones (122-124bis).

Otros Parásitos .

Con frecuencia, se han demostrado en pacientes con SIDA, infecciones por otros patógenos entéricos como: *Entamoeba histolytica* y *Giardia lamblia*, sin embargo no existen datos que confirmen mayor incidencia de los mismos entre grupos de población con y sin SIDA (36).

7.2 HONGOS.

CRYPTOCOCCUS NEOFORMANS.

Cryptococcus neoformans es un hongo levaduriforme y capsulado, capaz de producir patología en pacientes IC, que suelen causar meningitis o enfermedad diseminada, siendo la primera más frecuente en enfermos con SIDA (36, 125-127)

La característica más importantes de la criptococosis en pacientes con SIDA es su mala respuesta a los tratamientos con anfotericina B y 5-fluorocitosina (5 FC). y además hay un alto porcentaje de intolerancia a 5 FC.

La anfotericina B debe administrarse por vía IV o intratecal por dar recidivas frecuentes y obliga a mantener el tratamiento casi de manera permanente, ya que incluso en algún paciente sin datos de actividad se ha demostrado *C. neoformans* en autopsia (125-127).

CANDIDA

La candidiasis es una enfermedad común en pacientes con SIDA; suele afectar a mucosas, con invasión local recordando a la candidiasis mucocutánea crónica, y puede afectar a cualquier punto del Aparato Digestivo (5,128, 129).

La estomatitis puede evidenciar en ocasiones la presencia de una esofagitis pero es la confirmación histológica de la lesión traqueal, bronquial o esofágica la que permite establecer el diagnóstico, en ausencia de otros factores que contribuyan en su presentación, como pueden ser la antibioterapia, corticoides o radiaciones.

La candidiasis esofágica en estos pacientes puede presentarse bien asintomática, o por el contrario, con síntomas de dolor bucal y disfagia.

El aspecto macroscópico de las lesiones esofágicas observadas en la endoscopia es muy sugestivo, e incluso diagnóstico, de candidiasis. Sin embargo es necesario el aislamiento de candidas en cultivo y sobre todo con biopsia ya que los CMV y Herpes virus, pueden causar manifestaciones similares a nivel de esófago (36,130,131).

El tratamiento de la candidiasis oral y esofágica puede hacerse tópicamente, con nistatina o clotrimazol pero pueden aparecer recidivas; por eso algunos autores recomiendan el uso de anfotericina IV o Ketoconazol oral con carácter indefinido.

Otras micosis sistémicas asociadas a pacientes con SIDA son: Infección diseminada por Histoplasma y por Coccidioides en órganos diferentes a pulmón y ganglios cervicales o hiliares (64,66 bis,128,132-135).

En algunos pacientes HIV positivos se han aislado también hongos filamentosos (Aspergillus o Mucor) (36).

7.3 VIRUS .

Cytomegalovirus (CMV) es quizás el patógeno más común en pacientes con SIDA. Mas del 90% tienen Ac anti CMV y la gran mayoría de ellos excretan virus por la orina o pueden aislárseles de la capa rica en leucocitos de la sangre circulante (36,136).

Las manifestaciones pueden ser: generales y locales, las generales más frecuentes son la fiebre y los síntomas constitucionales, mientras que las manifestaciones focales de mayor interés son la neumonitis, la diarrea con ulceración gastrointestinal, la afección suprarrenal con insuficiencia funcional y la coriorretinitis (136-138).

En la autopsia de los pacientes con SIDA suele encontrarse infección diseminada por CMV afectando cerebro, médula ósea, hígado, bazo y suprarrenales (139,140).

Como tratamiento y con diversos resultados se ha

empleado el Ganciclovir, pero se han descrito frecuentes recidivas (141-143).

En pacientes con SIDA Herpes simplex es también un patógeno muy frecuente. Habitualmente se asocia con la formación de grandes lesiones ulcerativas en áreas cutá-neomucosas siendo poco frecuente la diseminación visceral (8).

Su localización más frecuente es en el área perianal y en el esófago. La infección perianal suele asociarse con hemorragias y dolor con la defecación y la infección esofágica produce un cuadro clínico semejante al de la esofagitis candidiásica. El tratamiento de elección es el aciclovir administrado por vía I.V. (a dosis de 20 mg/kg, tres veces al día), o por vía oral (200 mg 5 veces/día).

El tratamiento suele ser bien tolerado, pero se acompaña de recidivas, por lo que se aconseja tratar de forma permanente con 200 mgr de aciclovir 3 a 5 veces día.

La infección por virus Papova, de las especies JCV y SV-40 se asocia a un cuadro de leucoencefalopatía multifocal progresiva (LMP). Se ha descrito como complicación rara en pacientes IC, pero con más frecuencia en aquellos que padecen enfermedad de Hodgkin, linfomas o leucemias en los que puede permanecer latente largo tiempo, reactivándose durante la inmunodepresión; y también en adictos a heroína con SIDA (13,36,144-147).

El cuadro clínico se caracteriza por manifestaciones neurológicas multifocales y deterioro del estado mental; radiológicamente las imágenes de desmielinización de la sustancia blanca en el TAC craneal son muy sugestivas del cuadro (148).

El diagnóstico se establece por la demostración de partículas virales características en el cerebro de los pacientes y en ocasiones pueden detectarse la presencia de Ac por inmunofluorescencia en las células del LCR (36).

Epstein-Barr virus (EBV), al igual que ocurre con CMV, casi la totalidad de los pacientes con SIDA tienen

Ac anti EBV y anti CMV. La infección puede ser asintomática o con gran afectación general con cuadros febriles, procesos neoplásicos, linfadenopatías y la propia inmunodepresión del SIDA sin que exista terapia específica eficaz para evitarlo (149-151).

La infección por Varicella-Zoster frecuente en pacientes con SIDA tiene tendencia a la diseminación y como tratamiento en las formas diseminadas se debe emplear Aciclovir (36).

7.4 INFECCIONES BACTERIANAS .

En estos pacientes pueden producirse 5 tipos de infecciones bacterianas: las asociadas con defectos de la inmunidad celular (*Salmonella*, *Listeria*, *Micobacterias*.), las asociadas con defectos de la inmunidad humoral (*S. pneumoniae*, *H. influenzae*,..), y en especial las que se presentan en enfermos con neutropenias (*P. aeruginosa*, *S. epidermidis*,..), otras infecciones de adquisición nosocomial (*S. aureus*, *S. epidermidis*, ..) y finalmente, infecciones de adquisición comunitaria (*Shigella sonnei*, *Streptococcus* grupo B,..).

La infección por *Salmonella* no typhi, tiene una incidencia del 4.2% en pacientes con SIDA comparada con la del 0,2 % en la población sin SIDA (152).

La infección por *Salmonella* en estos pacientes suele presentarse con gastroenteritis y bacteriemia y en otras ocasiones con bacteriemia sin puerta de entrada conocida. No siempre se logra su erradicación con antimicrobianos y la tendencia a las recidivas es tan elevada que está justificado, una vez concluido un ciclo terapéutico inicial, el tratamiento supresor permanente (125,152,153).

La infección recidivante por *Salmonella* en pacientes con infección por HIV se encuentra dentro del Apéndice II-A, en la nueva revisión dada por el CDC, como infección

ción diagnóstica del síndrome (66bis,154,155)

Hay otros gérmenes que pueden provocar infecciones en pacientes con SIDA, y en cuya defensa interviene la inmunidad humoral, así se han descrito en estos pacientes infecciones por *Streptococcus pneumoniae* y *Haemophilus influenzae* con más frecuencia que en la población normal (125,156,157).

Sin embargo no son frecuentes, en estos pacientes con SIDA, las infecciones por *Listeria* (158), *Legionella* (159) o *Campylobacter* (36,160,161).

En pacientes con SIDA, la bacteriemia por *Campylobacter* es una infección poco descrita; sin embargo se ha encontrado este germen en las heces de homosexuales y aunque el microorganismo se erradique, la diarrea persiste. No se conoce bien si la diarrea se debe al microorganismo en sí, al virus o al sarcoma de Kaposi en la mucosa digestiva (36).

I.8 INFECCION POR MICOBACTERIAS EN PACIENTES INFECTADOS POR HIV .

La visualización por tinción del bacilo tuberculosos había cumplido, al inicio de esta tesis, un siglo de existencia. Al descubrimiento de *Mycobacterium tuberculosis*, (*M. tuberculosis*) por Roberto Koch en el año 1882, siguieron, a lo largo del presente siglo, el de micobacterias distintas al *M. tuberculosis*, MOTT, mal llamadas "micobacterias atípicas", cuya biología, diagnóstico y clasificación incluimos, por conocidas, en el apartado "ADDENDUM".

M. tuberculosis y MOTT han sido clásicamente consideradas como ejemplos típicos de verdaderos patógenos y de saprofitos respectivamente, hasta gran avanzada la segunda mitad de la presente centuria.

La explosión del concepto de infección en el inmuno-deprimido, recogida en las últimas décadas al amparo de:

los logros en la cirugía instrumental, en el tratamiento de los pacientes con enfermedades malignas o alteraciones inmunitarias, ha obligado a considerar los mencionados conceptos sobre micobacterias.

M. tuberculosis, además de ser un patógeno, se comporta como un microorganismo oportunista en pacientes que presentan graves trastornos en la inmunidad celular; y ha sido causa bien conocida de infección, e incluso diseminada, en enfermos tratados con corticoides, en sujetos receptores de órganos y en inmunodeprimidos por otras razones (162-178).

Un papel semejante ha sido otorgado a las **MOTT**, pero sólo con carácter ocasional y en circunstancias especiales como son: aislamientos repetidos de lugares donde puedan estar colonizando, o, procedentes de lugares orgánicos no contiguos y cuando son aislados en muestras clínicas consideradas como estériles.

En 1.979 Wolinsky publicó una excelente revisión sobre las enfermedades ocasionadas por micobacterias, notificando 78 casos recogidos de la literatura en los que el agente causal eran micobacterias pertenecientes al grupo

MOTT, así mismo insiste en los criterios ya establecidos, para considerar dichos microorganismos como patógenos. Se requiere aislamientos repetidos de una misma micobacteria en ausencia constante de **M. tuberculosis** y **M. bovis** (179).

Las infecciones causadas por micobacterias del grupo **MOTT** se han descrito en pacientes con graves enfermedades de base como linfomas, leucemias u otras neoplasias y en los que con frecuencia causaban infección diseminada. (162-164, 180-184)

En otros pacientes, sin enfermedades de base, han sido causales de procesos localizados; pulmonares (179, 182, 183, 185-198bis), articulares (199-202) o cutáneos (203-206) y, en ocasiones, de procesos diseminados (184, 207-214).

Las características epidemiológicas de los pacientes

con infección por HIV y el defecto inmunológico causado por la infección viral, hacen a estos pacientes un grupo especial de riesgo a infectarse por micobacterias.

La explicación de infectarse por estos microorganismos este grupo de población, afectado por el SIDA, aparte del ambiente de promiscuidad en que muchos de estos pacientes se encuentran, está condicionado por la propia infección del HIV. Cualquier proceso que interfiera la inmunidad celular, y en este caso la infección por HIV así actúa, aumentará el riesgo de la diseminación, en el caso de una primoinfección por micobacterias, o bien a la reactivación de su estado de latencia originando una infección postprimaria.

Es en EE.UU, país donde la tuberculosis estaba prácticamente erradicada, donde comenzaron aparecer las primeras publicaciones de pacientes con SIDA e infectados por micobacterias. Siendo las micobacterias no tuberculosas, *MOTT*, las que con mayor frecuencia afectaban al hombre y en especial *M. avium-intracellulare* *MAI* (36).

MAI es una micobacteria *MOTT*, considerada como patógeno excepcional antes de 1980, pero que se ha convertido en una causa muy frecuente de infección en este grupo de pacientes afectados por el SIDA (179).

En diversas publicaciones que recogen la experiencia estadounidense *MAI* fue el agente causal de infecciones en el 18% de los pacientes con SIDA, y se aisló en el 53% de las muestras de necropsia de estos pacientes. (215-218).

La infección por este microorganismo en estos pacientes, por lo general, es preferentemente diseminada, y puede demostrarse en médula ósea, hígado, riñón, bazo, pared intestinal, pulmón, heces, esputo y, con frecuencia, en sangre y manifiestan ausencia de granulomas (198,215, 219-226).

Al ser frecuentes las infecciones diseminadas los hemocultivos son muy útiles en su aislamiento, por métodos de lisis-centrifugación o radiométricos, ya que el nú-

mero de microorganismos puede superar incluso los 20.000 UFC/ml.(216,217,227-231).

Las manifestaciones clínicas directamente atribuidas a la presencia de MAI, son difíciles de delimitar con precisión por la frecuente coexistencia de otras infecciones y por la resistencia a la erradicación del microorganismo con tratamiento antimicrobiano.

M. avium-intracellulare es resistente "in vitro" a la mayoría de los tuberculostáticos existentes; se han propuesto muchas pautas de tratamiento siendo activas en muchas ocasiones sólo la ansamicina (derivado de las rifamicinas) y la clofazimine (un fármaco antileproso). Pero a pesar de ésto la respuesta clínica es pobre o nula, demostrándose la persistencia de micobacteriemia durante el resto de la vida del paciente (232-237)

Con menos frecuencia se han descrito infecciones por otras micobacterias en pacientes con SIDA, como son las ocasionadas por: *M. xenopi* (238-240), *M.kansasii* (241,242)

M. fortuitum (125) *M. gordonae*, (243) y *M. haemophilum* (244).

En las enfermedades por MOTT, (Micobacteriosis), la transmisión no es interhumana, se adquiere por inhalación del medio ambiente, por ingesta de leche, ó agua y por inoculación directa.

Mientras que la enfermedad diseminada por micobacterias del grupo MOTT era en sí misma indicadora de SIDA, en la definición que el CDC realizó del síndrome en el año 1986, con la infección, incluso diseminada, por micobacterias tuberculosas no ocurría lo mismo (64).

El CDC en el 1983 comunica el descenso en EE.UU de aislamientos de *M. tuberculosis* y el incremento de micobacterias del grupo MOTT .(245).

Pitchenik en el mismo año muestra los datos en una población de inmigrantes de Haití en los EE.UU, con infección diseminada por *M. tuberculosis*, comenzando a insistir en la posibilidad de considerarla como infección oportunista en países donde la prevalencia de la tuberculosis

fuese alta (246).

En España comienzan, en el año 1985, las primeras publicaciones sobre la infección por micobacterias en pacientes con SIDA, pero son diferentes a las series americanas, aunque de forma esporádica comienza a comunicarse algún caso aislado de infecciones por micobacterias pertenecientes al grupo MOTT en pacientes con SIDA; en general todo lo publicado era en relación con *Mycobacterium tuberculosis* (241,247-249).

II. JUSTIFICACION Y OBJETIVOS DEL TRABAJO.

II. JUSTIFICACION Y OBJETIVOS DEL TRABAJO.

II.1 JUSTIFICACION DEL TRABAJO .

Nuestro interés por el estudio de la infección por micobacterias en pacientes con SIDA surge del estímulo que nos despiertan las comunicaciones americanas con el aislamiento en estos pacientes de micobacterias del grupo MOTT

En nuestro país la experiencia que en esos momentos se tiene en este nuevo síndrome era escasa, pero durante los años 1984-1985, el SIDA deja de ser un hecho anecdótico para convertirse en un problema diario en cualquier Hospital.

Comienzan las primeras publicaciones con datos sobre su incidencia en determinados grupos de población; es un primer momento de desconcierto ante los datos que se van obteniendo y comparando con los hasta ese momento publicados en otros países (247,248).

Con la experiencia personal, adquirida en tantos años de dedicación a la Microbiología, y con especial interés en la Micobacteriología; nos encontramos ante una población de enfermos en que la infección por micobacterias, y en especial la debida a *M. tuberculosis*, es diferente a lo hasta entonces observado por nosotros en pacientes sin el síndrome, e incluso, en pacientes inmunocomprometidos por causas diversas, como las debidas a los transplantes de órganos o por enfermedades malignas, bien de causa hematológica u otras neoplasias.

Suelen ser pacientes que presentan una clínica poco clara de infección por micobacterias, en los que a su vez, las infecciones oportunistas que presentan, están enmascarando o simulando a veces la infección micobacteriana.

También radiológicamente muestran unas imágenes que a veces recuerdan a las infecciones por *P. carinii* e incluso, en ocasiones, presentan una radiología normal.

El proponernos este trabajo surgió, también en parte, por la población asistencial a que atiende nuestro Hospital que procede, en su mayor parte, de ambientes sociales marginados y en donde la infección por HIV era cada vez más frecuente.

Aunque la prevalencia de la tuberculosis ha disminuido de forma considerable en los últimos años, *M. tuberculosis* continúa siendo el patógeno más importante en el paciente infectado por HIV. A su vez, el aumento del número de pacientes afectados por el SIDA en nuestro medio puede haber facilitado el aumento de la morbilidad de la tuberculosis como en todos los países donde la incidencia del SIDA esté aumentando.

Todos estos datos nos condujeron a realizar un estudio sistemático, para el aislamiento de micobacterias, ante toda población HIV (+). Resultados que comunicamos en el "II. International Conference on AIDS", en París en el año 1986. Este estudio recogía un total de 35 pacientes con SIDA, en los que hicimos mención especial a la infección por micobacterias, y la única micobacteria aislada, en un total de 26 pacientes, fue *M. tuberculosis* .(249).

Los datos obtenidos en ese trabajo y continuando con el seguimiento de estos pacientes, es el que se ha convertido en el que aquí se presenta en 100 pacientes diagnosticados de SIDA y en el que nos propusimos los siguientes objetivos, deseando con ello contribuir al estudio, en nuestro medio, de las infecciones por micobacterias en estos pacientes y aportar un mejor conocimiento en su diagnóstico.

II.2 OBJETIVOS DEL TRABAJO

En nuestro Hospital el progresivo incremento del número de casos de pacientes diagnosticados de SIDA y la alta incidencia de la infección por micobacterias en estos pacientes ha obligado a plantearnos los siguientes objetivos:

1.- Valorar las características epidemiológicas, clínicas y diagnósticas de los pacientes afectados de SIDA.

2.- Señalar la alta incidencia de infección por micobacterias en dicho grupo de población y las características peculiares de la misma en los pacientes de nuestro medio.

3.- Relacionar la cronología entre el diagnóstico de la infección por micobacterias y el diagnóstico de otras infecciones oportunistas diagnósticas del SIDA.

4.- Valorar el rendimiento diagnóstico de las diferentes muestras clínicas, recibidas de estos pacientes, en el diagnóstico de la tuberculosis y micobacteriosis.

5.- Comparar la supervivencia de los pacientes con SIDA con y sin tuberculosis.

- 36 -

6.- Comparar los rendimientos que en el diagnóstico de tuberculosis tienen los Servicios de Microbiología y Anatomía Patológica.

7.- Valorar la sensibilidad frente a fármacos tuberculostáticos de las micobacterias aisladas.

8.- Evaluar la reacción de Mantoux como marcador epidemiológico en estos pacientes afectados por el síndrome.

III. MATERIAL Y METODOS.

III.1 MATERIAL.

1.1 POBLACION ESTUDIADA .

El Hospital General Gregorio Marañón de Madrid, está dotado de 2.300 camas de las que 1.000 comprenden el Centro Médico Quirúrgico (CMQ). Atiende a una población de alrededor de 800.000 personas del área sudeste de Madrid, no sólo de enfermos pertenecientes a la Seguridad Social sino también a enfermos sin recursos económicos. También asiste a pacientes procedentes del Hospital Penitenciario de Carabanchel y a los de la Unidad de Toxicómanos de la Autonomía de Madrid.

En un periodo de 4 años, comprendido entre julio de 1.983 a julio de 1.987, hemos recogido, para este estudio prospectivo, a un grupo de 100 pacientes adultos con diagnóstico de SIDA según los criterios que el CDC exigía, antes de la última revisión de 1987, en relación con las infecciones o tumores diagnósticos del síndrome (64).

Se excluyeron de este estudio los pacientes con Ac anti HIV con infección extrapulmonar o diseminada por M. tuberculosis, ya que al finalizar este trabajo, aún esta infección no era diagnóstica de SIDA. En la nueva revisión de la definición del síndrome, realizada por el CDC en Agosto de 1987, y admitida por la OMS a finales del mismo año, ya si se considera como infección oportunista diagnóstica del síndrome (66 bis).

Se han revisado las historias clínicas de estos pacientes, haciendo especial mención en los que presentaron infecciones por micobacterias.

En los pacientes que presentaron infección por estos microorganismos, se han contrastado los hallazgos histológicos, con la presencia o no de granulomas con o sin caseosis, y los datos obtenidos por nosotros en relación con el aislamiento de micobacterias en las muestras clínicas, de estos pacientes, estudiadas en nuestro Laboratorio.

Para el criterio diagnóstico de infección por micobacterias hemos seguido: como diagnóstico probable se ha considerado, la visualización de bacilos ácido-alcohol resistentes, BAAAR, en las tinciones realizadas a las muestras clínicas de estos pacientes, e incluyendo las que procedían de Anatomía Patológica, de las biopsias y necropsias. También se realizó, para detectar infectados por micobacterias, la intradermorreacción de Mantoux.

Como diagnóstico cierto se hizo con el aislamiento de estos microorganismos en cultivo a partir de cualquier muestra anteriormente mencionada.

Hemos procesado para el diagnóstico de infección por micobacterias todas las muestras clínicas recibidas de estos pacientes, así como las procedentes de necropsia. El total de muestras recibidas, para el aislamiento de estos microorganismos, fue de 635 que procedían de diferentes localizaciones como se detallan en la Tabla 2.

En la Tabla 3 se detallan las muestras de origen respiratorio con sus diferentes localizaciones.

1.2 PROTOCOLO DE ESTUDIO .

En cada uno de los pacientes estudiados se recogieron de forma sistemática, en una ficha nominal, los siguientes datos: edad, sexo, factores de riesgo, Ac frente a HIV y el Servicio donde estuviese ingresado.

En el procesamiento de las muestras clínicas procedentes de los pacientes estudiados, se ha realizado un protocolo de trabajo con los datos: resultados obtenidos en la tinción para visualización de BAAAR, el tiempo de crecimiento de las micobacterias, las reacciones bioquímicas para la identificación y la sensibilidad a tuberculostáticos.

Describimos a continuación, las técnicas realizadas, en las muestras clínicas de estos pacientes, para el aislamiento e identificación de Micobacterias.

TABLA 2.

PROCEDENCIA DE LAS DIFERENTES MUESTRAS CLINICAS .

PROCEDENCIA	MUESTRAS n=635
Respiratorias.	300.
LCR.	61.
Adenopatías.	34.
Abcesos.	3.
Biopsias cerebrales.	3.
Biopsias esplénicas.	7.
Biopsias hepáticas.	7.
Biopsias medulares.	4.
Biopsias de colon.	1.
Orinas.	161.
Hemocultivos.	51.
L. peritoneales.	3.

TABLA 3.

MUESTRAS DE ORIGEN RESPIRATORIO .

PROCEDENCIA	MUESTRAS Nº = 300
Espustos.	228.
Lavado broncoalveolar	49.
Biopsia de pulmón	7.
Biopsia pleural	1.
Biopsia bronquial.	2.
Punción transtraqueal	4.
Líquidos pleurales.	9.

III.2 METODOS.

Un laboratorio de Microbiología debe familiarizarse con los procedimientos de diagnóstico de enfermedades causadas por Micobacterias, cuyo aislamiento e identificación requieren procedimientos largos e incubaciones prolongadas, (hasta de dos meses en algunas circunstancias en crecedores lentos), así como con reactivos no usuales en la identificación de otros microorganismos. También deben seguirse unos requisitos en relación con la obtención y transporte de las muestras.

El laboratorio debe indicar a los servicios del Hospital que le envían muestras, cómo proceder para garantizar una buena toma en relación con el volumen mínimo de las mismas, así como su conservación en caso de no poder ser enviadas inmediatamente para su procesamiento. Tabla 4

Las muestras serán obtenidas en recipientes estériles, de tapón de rosca, herméticamente cerrados e introducidos en su bolsa correspondiente de papel de celofán. No se admitirán envases con roturas o desperfectos.

La rapidez en el transporte de las muestras es una condición esencial, pues a medida que pasa el tiempo, proliferan los gérmenes acompañantes en las muestras que proceden de lugares orgánicos no estériles, los cuales alteran el pH y segregan enzimas que pueden inhibir el crecimiento de las micobacterias.

La temperatura ideal de conservación es de 4 °C; se estima que a esta temperatura la viabilidad de las micobacterias se mantiene durante una semana aproximadamente.

A la llegada de las muestras al laboratorio se tomarán las siguientes precauciones:

- 1.- Comprobar que cada muestra llega acompañada de su volante correspondiente, comprobando la legibilidad de los datos del volante y la identidad entre los datos que figuran en las muestras.

- 2.- Asignar a cada muestra un número consecutivo del registro general. Dicho número será anotado en el volante

TABLA 4: OBTENCION, ENVIO Y PROCESAMIENTO DE MUESTRAS.

MUESTRA	VOLUMEN MINIMO	MANTENIMIENTO	DESCONTAMINACION	PROCESAMIENTO	OBSERVACIONES
Espuito	5-10 m	nevera.	si	L-J L-J+P	1 ^o de la mañana NUNCA DE 24 HORAS
A.Bron- coscopia	2-3 ml	nevera.	si	L-J L-J+P	Sembrar rápido.To- mar sin anestésico
PTP,PTT	1 ml	nevera.	depende de flora	L-J L-J + P	Sembrar de jeringa
J.gás- trico.	10-15ml	procesar rápido	si	L-J L-J + P	Neutralizar con tampón alcalino
LCR	2-3 ml	nevera.	no	L-J + P 7H9+ADC	Sembrar sedimento teñir el retículo
L.Peri- cárdico.	2-3 ml	nevera.	no	L-J L-J + P	Estériles sembrar en M7H9+ADC.
L.Pleu- ral.	10 remi- tido	nevera.	no	L-J L-J + P	Estériles sembrar en M7H9+ADC.
L.sino- viales	10 remi- tido	nevera.	depende de flora.	L-J L-J + P	Estériles:M7H9+ADC evitar coagulación
Otros Exudados	10 remi- tido	nevera.	depende de flora.	L-J L-J + P	Estériles:M7H9+ADC cutáneos:M-Conkey
Orinas	10-20ml	nevera.	si	L-J	NUNCA SEMBRAR ORINAS DE 24 HORAS
Biopsias	10 remi- tido.	nevera.	depende de flora.	L-J M-Conkey	Deben incubarse unos tubos a 30°C.

y en el frasco o frascos de la muestra.

3.- Rellenar un protocolo de trabajo por cada muestra, anotando el número de registro, el servicio de procedencia, la cama del paciente, así como su nombre, apellidos, fecha de recepción en el laboratorio y tipo de muestra.

2.1 DIAGNOSTICO DE MICOBACTERIAS .

2.1.1. OBTENCION DE MUESTRAS

ESPUTO Y LAVADO GASTRICO.

Una buena muestra de esputo consiste en 5-10 ml de secreciones recientemente descargadas del árbol bronquial, con cantidades mínimas de mucosidades orales y nasales. Es preferible la primera muestra de la mañana durante tres días consecutivos, obtenida después de enjuagar la boca con agua, que se recogerán en un recipiente estéril de 50 ml, de boca ancha y tapón de rosca. Deben rechazarse muestras de 24 horas.

Para los pacientes que no expectoren, pueden obtenerse muestras apropiadas induciéndoles tos por inhalación de solución salina aerosolizada templada.

El esputo inducido es generalmente superior al lavado gástrico para el aislamiento de bacilos tuberculosos, pero si se hace inducción de esputo y a los 30 minutos extracción de jugo gástrico se puede aumentar la obtención del número de aislamientos positivos a *M. tuberculosis* .

En niños muy pequeños, o pacientes que no colaboren en la obtención de una muestra de esputo, se realizará un lavado gástrico obtenido como mínimo 8 horas después de que el paciente haya comido o tomado fármacos orales. Deben ser enviados inmediatamente al laboratorio, ya que el pH puede afectar la viabilidad de las micobacterias y en el caso de no poder ser enviadas al laboratorio antes de 2 horas de su extracción se debe añadir una sustancia neutralizante de la acidez del jugo (5ml de fosfato trisódico

al 10 % en cada envase).

ORINAS.

Se recogerá la orina emitida en la primera micción de la mañana en un recipiente estéril, de boca ancha y debidamente etiquetado con los datos del enfermo y fecha de la toma. Debe remitirse inmediatamente al laboratorio y no se admitirán orinas de 24 horas.

LIQUIDOS HABITUALMENTE ESTERILES, TEJIDOS Y EXUDADOS

La forma de envío al laboratorio será también efectuada en frascos estériles y cerrados con tapón de rosca, procurando enviar el mayor volumen de muestra posible.

Los tejidos deben enviarse en el mismo contenedor que el resto de las muestras, pero conviene remitirlos lo antes posible al Laboratorio; cuando no pueda hacerse se mantendrán refrigerados al igual que cualquier otra muestra.

El procesamiento de las muestras se realizará en cabina de seguridad de flujo laminar vertical y con protección personal de los técnicos dedicados a esta tarea mediante: mascarilla, guantes de goma, bata y calzas.

En esta cabina de seguridad es donde se preparan las muestras para el examen microscópico y su cultivo.

2.2 MICROSCOPIA Y TINCIONES

El examen microscópico es el procedimiento más rápido para detectar los BAAR, aunque menos sensible que el cultivo, pues la visualización de los mismos por tinción requiere un número de gérmenes, en la muestra a estudiar entre 5.000 a 10.000 bacilos/ml, mientras que basta un total de 100 a 500 bacilos/ml para obtener cultivos positivos.

Sin embargo el examen microscópico es muy útil en el

diagnóstico presuntivo de las infecciones por micobacterias así como en el seguimiento de pacientes en tratamiento.

Las extensiones de las muestras clínicas a estudiar para su tinción se realizan de la manera siguiente:

Primero se marcan los portaobjetos con el número de registro correspondiente a cada muestra, empleando para ello un lápiz de punta de diamante que rotula el cristal. Se deben emplear en cada extensión portas nuevos y desengrasados, para lo cual es conveniente lavarlos con una mezcla de alcohol-sulfúrico al 1%.

Si la muestra fuese de esputo se escogerá la parte más purulenta del mismo para realizar el frotis.

En muestras líquidas se habrá procedido previamente a su centrifugación, a 3.000g durante 15 minutos, y se realizará el frotis del sedimento.

En muestras muy purulentas se homogeneizarán previamente con agua destilada.

Las muestras de biopsia, o las que procedan de las necropsias, se cortarán en trozos pequeños y se hará una impronta en el portaobjetos con uno de ellos.

Una vez realizadas estas consideraciones, se procede a hacer la extensión sobre el porta utilizando los 2/3 del mismo y reservando el otro tercio para el número de registro.

La extensión se realiza con un asa previamente incinerada y enfriada o bien con un asa de un sólo uso. Se extiende una película tan fina y homogénea como sea posible y sin grumos del material a estudiar. A continuación se procede a su secado, mejor es con calor suave en una placa calefactora a 65 °C durante dos horas.

Existen varios métodos para la visualización de micobacterias al microscopio, unas que tienen como colorante base carbol-fuchina y otras en las que estos colorantes son fluorocromos. En nuestro Laboratorio, como técnica rutinaria, se emplea la tinción de auramina-rodamina, por fluorescencia, que permite la visualización del frotis en

aproximadamente 4 minutos, en contraste con los 20 minutos que puede llevarse el exámen del mismo por tinción de Ziehl-Neelsen y sólo realizamos esta última tinción para confirmar positividads dudosas, o bien cuando se obtienen de los medios de cultivos ya crecidos, ya que existen algunas MOTT que no se tiñen por la tinción fluorescente.

Las tinciones que a continuación describimos se basan en la ácido-alcohol resistencia que estos microorganismos presentan, es decir la incapacidad que tienen una vez teñidos para decolorarse por la mezcla de ácido-alcohol.

2.2.1 TINCION DE FLUORESCENCIA .

Técnica :

Fijadas las extensiones previamente, bien por metanol a 99% o por calor, se colocarán sobre los caballetes para la tinción. Debe tenerse la precaución de separar los portas entre si para evitar falsos positivos al pasar micobacterias de una extensión a otra. Nuestra técnica es la siguiente:

- .- Depositar la solución auramina-rodamina cubriendo todo el porta y dejándola actuar durante 15 minutos.
- .- Lavar con agua destilada.
- .- Decolorar con alcohol-clorhídrico durante 2-3 minutos.
- .- Depositar el permanganato cubriendo el porta y dejándolo actuar 3-5 minutos.
- .- Lavar con agua y dejar secar a temperatura ambiente.

Nosotros empleamos como colorante de contraste el rojo tiazina; la situación de nuestro microscopio hace que reciba mucha luz lateral y con este colorante como contraste resulta más facil enfocar y hacer la lectura.

Lectura :

Debe hacerse inmediatamente después de teñir las preparaciones; se colocan las mismas sobre la platina del mi-

croscopio de luz ultravioleta y se enfoca utilizando un objetivo de poco aumento (25x) y un ocular de 10x.

Se realiza un recorrido en zig zag de izquierda a derecha y de arriba abajo hasta examinar toda la extensión.

Las micobacterias se verán de un color amarillo verdoso sobre un fondo oscuro cuando se haya empleado como colorante de contraste el permanganato potásico, pero en nuestro caso aparecerán sobre un fondo rojo por el colorante de contraste empleado. Figura 1.

2.2.2 TINCIONES CON CARBOL-FUCHINA.

TINCION DE ZIEHL-NEESEN .

Técnica :

Con las extensiones ya fijadas y actuando como la coloración anterior, se procederá de la siguiente manera:

.- Cubrir los portas con fuchina fenicada y calentar hasta la emisión de vapores. Dejar enfriar y repetir la operación dos veces más. Evitar que se produzca ebullición y si se perdiese la fuchina del porta debemos añadir más sobre él.

.- Lavar con agua destilada.

.- Decolorar con alcohol-clorhídrico al 3% 3-5 minutos.

.- Cubrir los portas con la solución de azul de metileno durante 5 minutos.

.- Lavar los portas y dejar secar a temperatura ambiente.

Lectura :

Se coloca la extensión, con una gota de aceite de inmersión en uno de sus extremos, sobre la platina del microscopio y se enfoca con el objetivo de inmersión (100 x 10). Se hace la lectura de la extensión de la misma forma

que en la de auramina-rodamina. Figura 2.

TINCIÓN DE KINYOUN.

Es una tinción más rápida que la del Ziehl-Neelsen.

Técnica :

Una vez fijada la extensión se procede de la siguiente manera.

- .- Cubrir la preparación con la solución de Kinyoun durante 5 minutos.
- .- Decolorar con el ácido-alcohol hasta que no arrastre nada de colorante anterior.
- .- Cubrir con azul de metileno durante 1 minuto.
- .- Lavar con agua destilada.
- .- Secar la preparación.
- .- Observar al microscopio con objetivo de inmersión.

Los bacilos tienen el mismo aspecto que en la tinción de Ziehl-Neelsen.

En todas las técnicas de tinción se pondrán controles de calidad con muestras positivas ya conocidas.

Puede haber errores en las lecturas de las tinciones cualquiera que sea la técnica utilizada y pueden deberse a:

Errores por defecto, que conducen a un falso diagnóstico y pueden hacer que un enfermo tuberculoso evolucione desfavorablemente por no haberse realizado un diagnóstico a tiempo. Estos resultados falsamente negativos pueden deberse a:

- .- Estudio de muestra no representativa de aparato respiratorio, (saliva en lugar de esputo), insuficiente cantidad de orina o jugos gástricos no tamponados.
- .- Mala calidad de los colorantes.
- .- Exceso de decoloración.
- .- Defecto de observación, bien por examinar pocos campos, fatiga del observador o falta de atención.

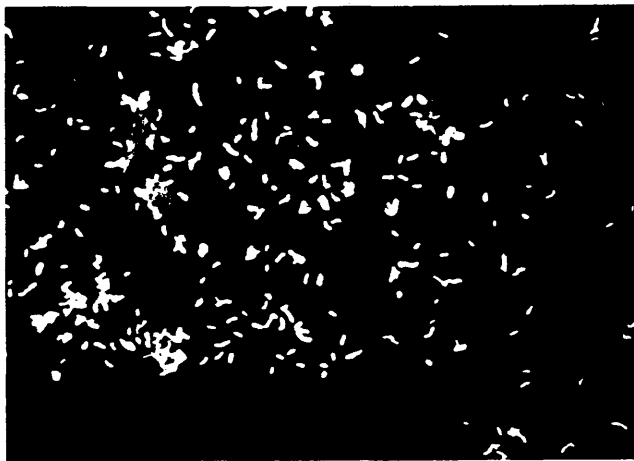


Figura 1.- Tinción de auramina-rodamina.

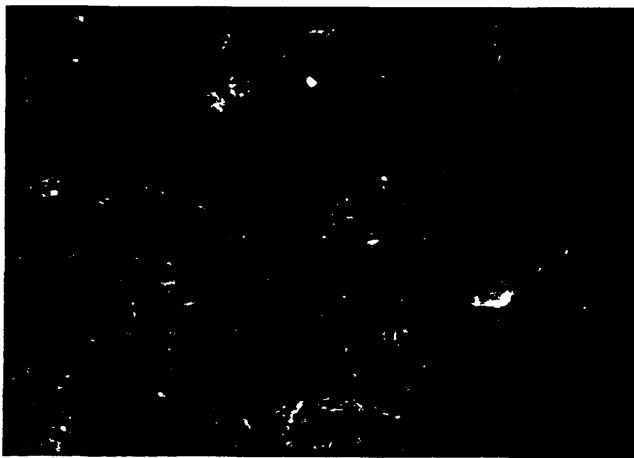


Figura 2.- Tinción de Ziehl-Neelsen

Errores por exceso, son los más graves puesto que se va a dar como tuberculoso a un enfermo que no lo es. Puede deberse a lo siguiente:

- .- No emplear portas nuevos en las extensiones.
- .- No recoger las muestras en frascos estériles.
- .- No limpiar el objetivo tras la visualización de una tinción con BAAR, cabe la posibilidad de que los bacilos puedan pasar al aceite de inmersión y de aquí a la siguiente preparación.

2.3 MEDIOS DE CULTIVO.

Las micobacterias son muy resistentes a la acción de los agentes físicos y químicos, pero al mismo tiempo son muy exigentes desde un punto de vista nutritivo, por lo que tenemos que emplear para su aislamiento medios selectivos y así evitar el crecimiento de otras bacterias; a su vez estos medios deben contener componentes nutritivos necesarios para su crecimiento.

De los medios de cultivo que existen en el mercado, hay unos líquidos y otros sólidos y de éstos unos que contienen huevo y otros que no, otros además pueden contener alguna sustancia indispensable para el crecimiento de alguna especie de micobacteria determinada, ej. el Piruvato para *M. bovis*.

Como medios de cultivo sólidos empleamos los de Lowenstein-Jensen con y sin piruvato, y como medios líquidos empleamos el de Middlebrook 7H9 (M7H9) enriquecido con albúmina-dextrosa-catalasa, (ADC); éste último lo empleamos bien en primocultivos de muestras estériles o con sustancias añadidas que posteriormente nos permita la realización de alguna reacción bioquímica para su identificación, ej: añadiendo Asparragina para realizar la prueba de la

niacina.

Aparte de estos medios de cultivos ordinarios que se usan en el procesamiento de muestras hay otros que tienen diferentes aplicaciones y destacamos los siguientes:

2.3.1 MEDIOS DIFERENCIALES.

Estos medios ayudan a la identificación de las distintas especies de micobacterias.

Medio de PNB.

Es un medio de Lowenstein-Jensen al que se le ha añadido ácido para-nitrobenzoico, permitiendo la diferenciación de *M. tuberculosis* y *M. bovis* de las micobacterias no tuberculosas MOT. Esta modificación fué realizada por Tsukamura.

Medio sólido de Sauton.

Es un medio donde crecen las micobacterias no tuberculosas pero no *M. tuberculosis* ni *M. bovis*.

Medio con TCH.

Consiste en un medio de Lowenstein-Jensen con 5 µgr/ml de la hidracida el ácido 2-tiofenocarboxílico.

También empleamos como medios diferenciales el medio líquido de M7H9, o el de Youmans, con sustancias determinadas que permitan diagnósticos diferenciales. Ej: Asparagina para realizar posteriormente la prueba de la niacina. Fenoftaleína, para realizar posteriormente la de la Arylsulfatasa, etc...

Nosotros empleamos rutinariamente el medio con TCH en las pruebas de identificación.

2.3.2. MEDIOS SELECTIVOS.

Medio de Gruft.

Es un Lowenstein-Jensen con penicilina y ácido nalidíxico.

Medio de Mycobactosel agar.

Es el Middlebrook 7H11 al cual se le ha añadido 0,002 gr de lincomicina, 0,36 gr de cicloheximida y 0,02 gr de ácido nalidíxico.

Mycobactosel Lowenstein-Jensen.

Es un Lowenstein-Jensen al cual se le ha añadido/cada 600 ml; lincomicina 0,0032 gr, cicloheximida 0,64 gr. y ácido nalidíxico 0,05 gr.

Medio de Mitchison.

Se emplea el Middlebrook 7H11 6 7H10 adicionado de: Polimixina, Carbenicilina, Anfotericina y Trimethoprim a concentraciones de:

Polimixina.....200 µgr/ml.

Carbenicilina.....100 µgr/ml.

Anfotericina B.....10 µgr/ml.

Trimethoprim.....20 µgr/ml.

Medio de McClathy.

Tiene la misma composición que el anterior pero varía la concentración de Carbenicilina a 50 µgr/ml; ya que con las concentraciones del medio anterior inhibe el crecimiento de algunas MOTT.

De la multitud de medios comercializados, siempre elegiremos aquellos medios que nos permitan el aislamiento de cualquier especie de micobacterias pero que al mismo tiempo nos reduzca las contaminaciones. De estos medios diferenciales hemos empleado, y no de forma rutinaria, el Mycobactosel Lowenstein-Jensen.

2.4 PROCESAMIENTO DE MUESTRAS CLINICAS.

Antes de sembrar una muestra para el cultivo de micobacterias hemos de tener presente que existen productos patológicos humanos que son considerados como estériles y que no necesitan ser sometidos a procesos de descontaminación. Por ello se pueden sembrar directamente después de su preparación.

Estos productos suelen tener muy pocas micobacterias y su descontaminación, además de ser innecesaria, puede tener efectos negativos sobre estos microorganismos. Este grupo está representado por todos los líquidos que provienen de cavidades cerradas y que no están en contacto con el exterior, ej: LCR., L.Pleural...

Hay otro gran grupo de productos patológicos que se consideran contaminados, es a ellos a los que hay que aplicar los procedimientos de descontaminación, ej: esputos, orina, material de autopsia etc.

Hay muchas técnicas para descontaminar las muestras que lo necesiten. El mejor método será aquel que de menos de 2-5% de contaminaciones en los cultivos. Entre los métodos más habituales están los de: Petroff, Kubica-Krasnow y Karlson.

Pasamos a estudiar el procesamiento de muestras:

Muestras que requieren descontaminación:

- .- Esputos.
- .- Jugos gástricos.
- .- Orinas.
- .- Exudados que contienen flora bacteriana.
- .- Muestras genitales.

El proceso de descontaminación en nuestro laboratorio se realiza según el método de Karlson:

Técnica:

- a.- En tubos de un sólo uso de capacidad de 50 ml de tapón de rosca, previamente etiquetados con el número

correspondiente al del registro de la muestra, preparados con la muestra a estudiar y llenos hasta $1/3$ de su capacidad, añadir igual volumen de NaOH al 2% que el de la muestra.

b.- Mezclar en un agitador durante 30 segundos.

c.- Mantener la muestra a estudiar en contacto con la sosa a temperatura ambiente, durante 15 minutos; neutralizar con ClH al 1,25N + púrpura bromocresol como indicador.

Al añadir el ácido, tomará color azul con trazos amarillos entremezclados. Si la acidificación hubiese sido muy intensa, tono violeta intenso, volver a añadir NaOH al 2% hasta la aparición de color azul mantenido. Durante este proceso el tubo debe agitarse para unificar color.

Los jugos gástricos con sustancia neutralizante, antes de empezar con este proceso, se deben centrifugar a 3.000g durante 15 minutos, tratando a continuación el sedimento como un esputo, (técnica descrita en el párrafo anterior).

d.- Una vez terminada la neutralización se procede a la centrifugación durante 30 minutos a 3.000g. Transcurrido este tiempo, y antes de abrir la centrífuga, se debe esperar 10 minutos.

Se extraerá el líquido sobrenadante de los tubos centrifugados vertiéndolo en un recipiente que contenga fenol al 5%. Se retirará, con pipeta estéril, el agua de condensación que suelen presentar los tubos que contienen el medio de Lowenstein y con esta misma pipeta se procede a la siembra del sedimento. Para ello se toman 0,2 ml para sembrar cada medio, resbalando el inóculo homogéneamente por toda la superficie del medio, y haciendo rotar el tubo que contiene el medio de cultivo con el inóculo de la muestra. Inmediatamente se colocan en posición horizontal en una gradilla y con los tapones aflojados para favorecer la desecación del inóculo ya que las micobacterias soportan muy mal la humedad.

Las muestras consideradas estériles se inocularán de

igual forma pero no se procederá a su descontaminación aunque sí a su centrifugación.

Cuando la muestra a estudiar es un Hemocultivo su procesamiento es diferente a lo descrito en esta rutina.

Hemos trabajado diferentes pautas, pero en la actualidad empleamos la siguiente: se trabaja sólo con el frasco de aerobiosis, (no olvidemos que las micobacterias no son anaerobias), y se procede de la siguiente manera:

Se inyecta, al frasco aerobio del hemocultivo, 10 ml de M7H9+ADC, se incuba una semana. Transcurrido este tiempo, se abre el frasco del hemocultivo, se realiza un Ziehl del sedimento y se pasa la totalidad del mismo a un frasco de 50 ml de capacidad de tapón de rosca. Si el Ziehl hubiese sido positivo, con visualización de BAAR, se comenzaría su procesamiento como muestra considerada estéril.

Si la tinción del Ziehl hubiese sido negativa, se seguirá incubándolo, con el resto de las muestras en estudio, repitiendo todas las semanas la tinción. En caso de no tener tinciones positivas, a las 4 semanas se realizan subcultivos, que se mantendrán en observación durante ocho semanas y se continuará la lectura igual que otra muestra.

En las muestras procedentes de heridas quirúrgicas, y de abscesos superficiales y postraumáticos pondremos: Lowenstein-Jensen, por duplicado para incubar una pareja a 30°C y los otros a 37°C.

En todas las muestras estériles aparte de los medios citados se sembrarán en un medio líquido de enriquecimiento, nosotros empleamos el M7H9+ADC.

Una vez inoculados todos los medios sólidos se incuban en estufa de 36,5-37°C con CO₂ al 8% en posición horizontal, hasta su desecación, para después pasar a la posición vertical, se mirarán a las 24-48 y 72 horas para detectar crecedores rápidos y posteriormente se hará lectura semanal.

Todos los tubos sembrados se incubarán durante ocho

semanas antes de informar un cultivo como negativo, durante este tiempo los tubos que mostrasen crecimiento bacteriano se pasarán a identificación.

2.5. DIAGNOSTICO POR EL LABORATORIO DE MICOBACTERIAS .

2.5.1. CONDUCTA A SEGUIR CON UN CULTIVO CRECIDO .

Ante toda colonia crecida en medios específicos para micobacterias se realizará lo siguiente: Tabla 5

- 1.- Comprobar caracteres tintoriales de ácido-alcohol resistencia.
- 2.- Caracteres de colonia: comprobar si hay sólo una especie o varias, es decir si se trata de un cultivo puro en género y especie.
- 3.- Anotar velocidad de crecimiento.
- 4.- Detectar posible pigmentación de la colonia.
- 5.- Realizar pruebas bioquímicas fundamentales para la indentificación de micobacterias tuberculosas.
- 6.- En caso de no pertenecer al grupo tuberculoso realizar identificación de las micobacterias MOTT.
- 7.- Realizar pruebas de sensibilidad a fármacos antituberculosos.

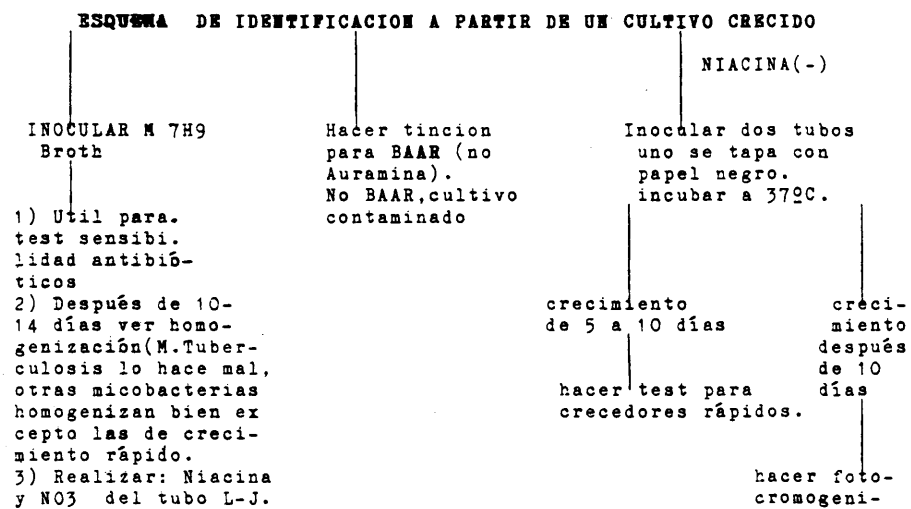
Pasaremos a describir cada proceso:

1.-Comprobación de la ácido-alcohol resistencia.

Debido a la propiedad de que algunas MOTT se tiñen mal por la tinción de Auramina-rodamina, realizaremos siempre a partir de una colonia crecida en medio de Lowenstein, la tinción de Ziehl-Neelsen ya descrita.

Al mismo tiempo esta tinción permitirá la diferenciación entre micobacterias y nocardias. Estas últimas son ácido-alcohol resistentes muy débiles y además son filamentosas; sus colonias muestran ramificaciones. En caso de duda se debe realizar la reacción del para-nitrofenol que es reducido a aminofenol por las nocardias.

TABLA 5.



2.- Comprobar los caracteres de la colonia y también si se trata de cultivo puro.

Las colonias pueden ser:

Lisas, rugosas, rugosas más lisas y planas. Las colonias de crecimiento exuberante se denominan eugónicas y las de crecimiento pobre se denominan disgónicas.

A veces no sólo se trata de cultivos mixtos de micobacterias, sino también de cultivos mixtos con otra flora microbiana que puede estar contaminando el medio. Deben hacerse aislamientos de cada especie mediante diluciones seriadas y posterior siembra en medio de Lowenstein o en medios selectivos.

3.- Anotar velocidad de crecimiento.

Es muy frecuente que, a partir de muestras clínicas, crezcan micobacterias que llamamos crecedores rápidos, que tardan en crecer lo mismo que las llamadas crecedores lentos, por ésto lo correcto es determinar el tiempo a partir de colonia crecida y mediante subcultivos de la misma.

4.- Detectar posible pigmentación.

Permitirá diferenciarlas en dos grupos: las que necesitan luz para su producción, (Fotocromógenas) y las que son capaces de producirle también en la oscuridad, (Escotocromógenas). Otras micobacterias no desarrollan nunca pigmento y son las llamadas No cromógenas. Figuras 3 y 4.

El pigmento a veces puede verse comprometido por la edad del cultivo, bien demasiado joven o demasiado viejo o bien por falta de oxigenación; para solucionar el problema hay que tener la precaución de aflojar bien los tapones para facilitar la entrada de O₂.

5.- Realización de pruebas para verificar si es un M. tuberculosis, como son la de la Niacina, la reducción de nitratos y el crecimiento en medio con TCH.

2.5.2. IDENTIFICACION DEL GRUPO TUBERCULOSO.

Ante toda colonia no cromógena y crecedora lenta realizaremos los siguientes test para el diagnóstico del

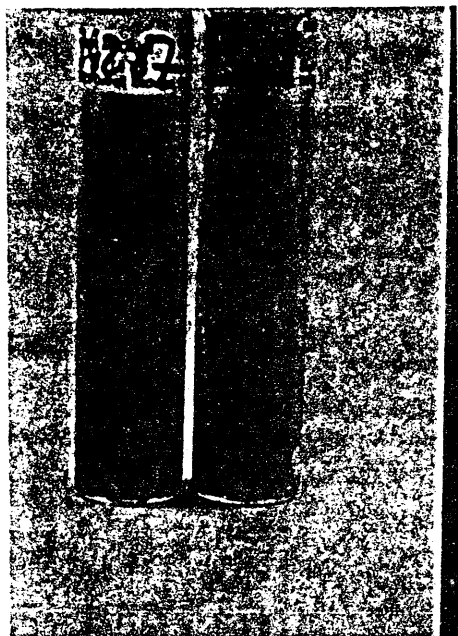


Figura 3.- Micobacteria fotocromógena.



Figura 4.- (1) Grupo no-cromógeno, (2) Grupo escotocromógeno y (3) Grupo rápido crecedor.

grupo tuberculoso:

1.- La reacción de la niacina se basa en demostrar la presencia del ácido nicotínico en los cultivos de Micobacterias. El ácido nicotínico reaccionará con los reactivos añadidos produciendo un precipitado amarillo, al unirse dos moléculas de anilina y una de glutaraldehído, molécula formada a su vez por la apertura del ácido nicotínico.

2.- La reacción de los Nitratos sirve para poner en evidencia la presencia de la enzima nitrato reductasa, que cataliza el paso de NO_3 a NO_2 , y éstos a veces hasta N_2 .

3.- La prueba de crecimiento en Lowenstein con TCH consiste en evidenciar sensibilidad o resistencia a la hidracida de ácido tiopen- 2 carboxílico .

4.- Prueba de la Pirazinamidasa evidencia la presencia de esta enzima que desamina la pirazinamida a ácido pirazinoico y amonio.

TEST DE NIACINA Y NITRATOS COMBINADO.

Es el empleado por nosotros en la identificación de M. tuberculosis . Figura 5.

Añadimos, a un tubo de Lowenstein-Jensen con crecimiento de micobacterias de 3-4 semanas de edad, 2ml de la solución de nitrato.

Se deja el tubo en posición horizontal durante 2 horas en baño maria a 37 °C o estufa. Si el crecimiento es confluyente, debe puncionarse la superficie del tubo, ya que el ácido nicotínico difunde al medio.

Transcurrido este tiempo, se extraen 0,5 ml para la realización de la prueba de la niacina, pasándolo a un tubo de hemolisis con tapón de rosca; se añade 0,5 ml de solución alcohólica de anilina al 4%, recién preparada, y se esperan 2 minutos, añadiendo a continuación 0,5 ml de solución acuosa de bromuro de cianógeno al 10%. La aparición de un color amarillo indicará reacción positiva. Se debe poner siempre un tubo control positivo con M tuberculosis

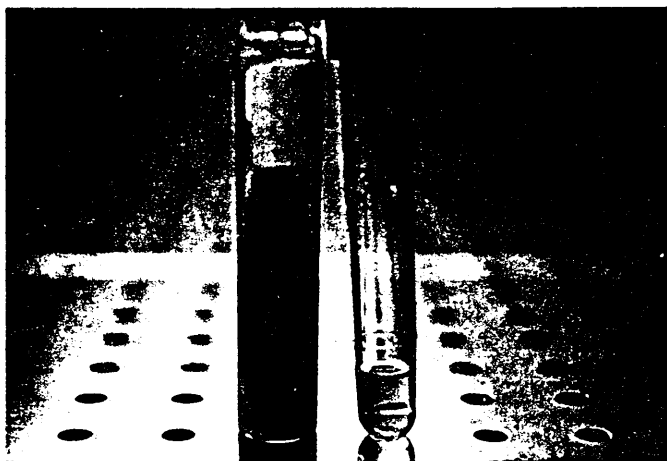


Figura 5.- Reacción de niacina y nitratos combinados.
Tubo de la izquierda reacción de nitratos positiva.
Tubo de la derecha reacción de niacina positiva.

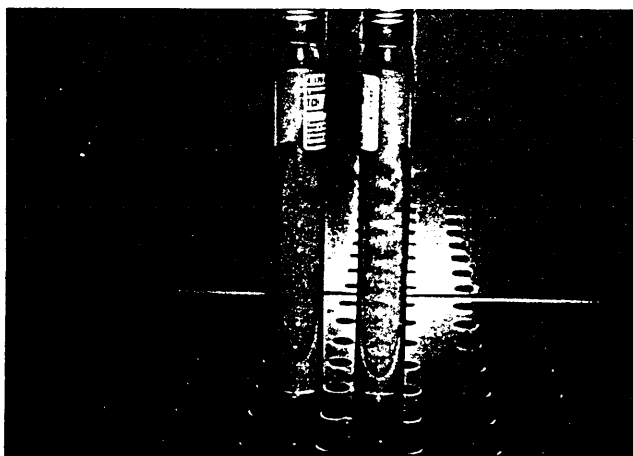


Figura 6.- Tubos de Lowenstein-Jensen con TCH.
Tubo de la izquierda sin crecimiento
Tubo de la derecha con crecimiento.

y un tubo control negativo con *M. fortuitum* .

En el tubo de Lowenstein, con la solución del nitrato restante, se añaden los reactivos siguientes procurando que resbalen por la pared de vidrio del tubo y no por la del medio.

.- 1 gota de ClH concentrado diluido 1:2

.- 2 gotas de solución acuosa de sulfanilamida al 0,2%.

.- 3 gotas de solución acuosa de N-alfa-naftil-etilen-diamina al 0,1%

La presencia de NO_2 se evidenciará por un viraje al rosa intenso; en caso de negatividad se añade Zn en polvo para confirmar si existe NO_3 o no en el medio.

Se debe poner un control positivo *M. tuberculosis* otro negativo, *M. chelonae* y un tubo sin gérmenes.

Con la prueba de resistencia al TCH, que se realiza sembrando la micobacteria en estudio en un medio de Lowenstein con 2µgr/ml de la hidracida del ácido tiopen 2-carboxílico, se diferencian *M. tuberculosis* y *M. microti*; ambos tienen el mismo comportamiento bioquímico frente a la niacina, los nitratos y la pirazinamida. Sin embargo *M. tuberculosis* crece en este medio y *M. microti* no crece. Figura 6.

M. bovis tampoco crecerá en este medio pero hay que hacer la salvedad de que la resistencia a la isoniazida implica también resistencia al TCH por lo que esta prueba no es valorable para el *M. bovis* resistente a la isoniazida, aunque no todos los autores están de acuerdo. Además la prueba de la niacina en esta micobacteria es negativa, pero es sensible a la Pirazinamida. Tabla 6

Macroscópicamente *M. tuberculosis* en medio de Lowenstein-Jensen, presenta un crecimiento eugónico, a las dos-tres semanas; son colonias rugosas, mates, de color marfileño y con aspecto de "migas de pan" o "coliflor".

M. bovis en el mismo medio, presenta crecimiento disgónico, muy lento de hasta 6-8 semanas y son colonias lisas de color marfil. *M. africanum*, es una variedad de *M. tubercu-*

TABLA 6.

IDENTIFICACION DEL GRUPO TUBERCULOSO

MICROORGANISMO	Niacina	NO3	TCH	PIRAZI- NAMIDA 7 días
M. tuberculosis	+	+	R	R
M. bovis	-	-	S	S
M. africanum	-	-	S	R
M. microtti	+	+	S	R

losis, raro en España y y que posee características intermedias entre *M. tuberculosis* y *M. bovis*, son colonias disgónicas y rugosas. Presenta un comportamiento bioquímico como *M. bovis* y les diferencia la prueba de la pirazinamida.

2.5.3. RESUMEN DE LA IDENTIFICACION DEL GRUPO TUBERCULOSO A PARTIR DE UN CULTIVO CRECIDO.

Hacer tinción para BAAR, realizar el Ziehl. Si la tinción muestra BAAR se pueden presentar dos casos diferentes:

.- Se trata de una micobacteria de crecimiento lento no cromógena, niacina positiva, con nitratos positivos. Debemos sembrar en medio de Lowenstein-Jensen con TCH; si es resistente y consecuentemente habrá crecimiento se tratará de *M. tuberculosis*. En caso de no haber crecimiento en 4-6 semanas se tratará de *M. microti* y ambos son resistentes a la Pirazinamida.

.- Si la prueba de la niacina, así como la de los nitratos, hubiesen sido negativas, se inocularía en medio de Lowenstein con TCH, en caso de no haber crecimiento, identificaríamos *M. bovis*, que a su vez es sensible a la pirazinamida.

Visualización del cord-factor .

Nos puede ayudar en el diagnóstico de una micobacteria la visualización de la formación de cordones, el llamado Cord-factor. Se observa en la película de crecimiento en superficie de un medio líquido (M7H9, Proskauer-Beck..)

Para su observación se toma un asa de las escamas que existen en la superficie, se deposita en un porta-objetos; se realiza la tinción de Ziehl-Neelsen y se observa al microscopio para observar los cordones característicos. Figura 7.

En caso de que se trate de una micobacteria que no

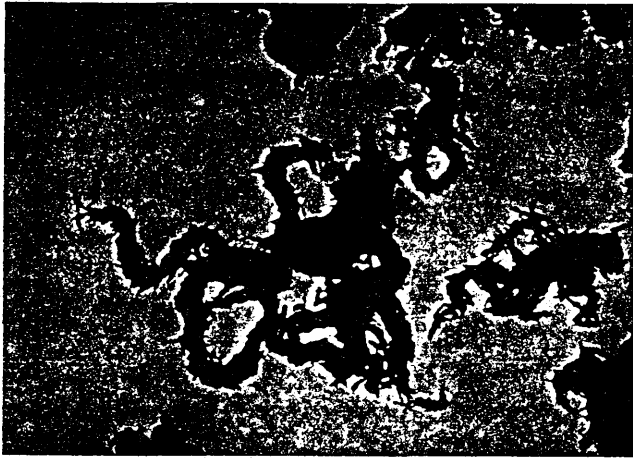


Figura 7. Tinción por Cienl del Cord-Factor

cumpla los requisitos anteriores se comenzará la identificación como una micobacteria no tuberculosa, **MOTT**, realizando las pruebas bioquímicas que a continuación se describen.

2.5.4. IDENTIFICACION DEL GRUPO MOTT

PRUEBAS BIOQUIMICAS.

Prueba de la catalasa caliente (Canetti y Groset, 1.968).

a.- Fundamento .

Se basa en la capacidad de ciertas micobacterias para descomponer el peróxido de hidrógeno, liberando oxígeno molecular gaseoso en forma de burbujas y produciendo espuma.

Reactivos :

- .- Tween 80.
- .- Agua oxigenada de 110 volúmenes.
- .- Agua destilada.
- Cultivo:
- Cultivo de Lowenstein en crecimiento.

Técnica :

Preparación de la suspensión.

Tween 80.....10 ml.

Agua oxigenada (110 volúmenes).....30 ml.

Agua destilada.....170 ml.

.- Se emulsiona un asa del cultivo en unas gotas de agua destilada.

- .- Se calienta a 68 °C durante 15 minutos.
- .- Se deja enfriar a temperatura ambiente.
- .- Se le añade 1 ml de la solución anterior.
- .- Se hace una lectura a los 5 minutos, y a los 15 minutos.

Interpretación :

Reacción (+): Formación de burbujas.

Reacción (-): Ausencia de burbujas.

Control (+): M. fortuitum.

Control (-): M. tuberculosis, y tubo sin gérmenes.

Todas las micobacterias tienen en mayor o menor grado actividad de catalasa, aunque según el método empleado los resultados pueden ser distintos. Conviene recordar que *M. tuberculosis* y *M. bovis* isoniazida (INH) resistentes han perdido la actividad catalasa.

La actividad de catalasa a 68 °C no solo la pierden *M. tuberculosis* y *M. bovis*, sino también:

- M. microti.*
- M. africanum.*
- M. gastri.*
- M. marinum.*

El resto de micobacterias producen catalasa a 68° C, a veces *M. malmoeense* puede perderla.

Método mixto catalasa-peroxidasa (Canetti y Grosset, 1968).

Reactivos:

- Catechol.....0,1 gr.
- H₂O₂ al 3%.....1 ml.
- H₂O destilada.....100 ml.
- Tween 801,25 ml.

Técnica.

En un tubo de hemólisis con 0,1 ml de H₂O destilada, emulsionar una o varias asas de bacilos; añadir 1ml de la solución anterior, y dejar 1 hora a temperatura ambiente.

Lectura.

Catalasa: Ver producción de espuma.

Reacción positiva: formación de espuma formado de 1 a 5 cm.

Reacción positiva débil: producción de anillo débil

Reacción negativa ausencia de espuma.

Peroxidasa: Si el sedimento es pardo rojizo, se considerará reacción positiva; si es incoloro o rosa pálido reacción negativa.

Conviene realizar lecturas a las 18 horas, ya que hay Micobacterias con reacciones tardías.

Hidrólisis del Tween 80.

Reactivos.

Tampón fosfato pH7.....100ml.

Tween 800,5ml

Solución acuosa al rojo neutro al 0,1 %.....2ml.

Distribuir en tubos de tapón de rosca y autoclavar a 121 °C durante 10 minutos. Dejar enfriar este reactivo. Se puede almacenar a 4 °C, en la oscuridad durante 3-4 semanas. Se suele poner en los tubos una cantidad total de 4 ml.

Técnica.

En un tubo que contenga 4ml del reactivo, se deposita un asa llena de bacilos. Incubar a 37 °C, durante 5 días, a veces hasta 10 días. La positividad da lugar a un viraje del amarillo-ámbar al rojo. Conviene no agitar los tubos. Esta prueba es muy útil en los lentos crecedores.

Debe usarse un control positivo *M. kansasii* y otro negativo *M. avium-intracellulare*.

Esta técnica tiene como fundamento la liberación de ácido oleico por la actividad enzimática que tienen algunas Micobacterias, al hidrolizar el Tween 80, el cual es un derivado de polioxietileno-sorbitano, que contiene aproximadamente un 20% de ácido oleico esterificado. La hidrólisis se manifiesta por un cambio de coloración.

Control positivo debe usarse *M. kansasii*.

Control negativo un tubo sin inocular microorganismos.

Prueba de la ureasa .

Como medio de cultivo emplearemos una solución de urea que contenga poco buffer, lo que permitirá hacer una determinación rápida y acortará el tiempo de incubación. También se pueden emplear discos de urea comercializados por la casa Difco.

Técnica .

En un tubo que contenga 0,5 ml de solución de urea, o bien 0,5 ml de agua destilada en la que pondremos un disco

de los comercializados, emulsionaremos un asa llena de bacilos. Incubaremos durante 4 horas. La lectura se basará en la aparición de un color rojo cereza, (el original era amarillo ámbar). Como controles positivos emplearemos *M. kansasii* y como negativo *M. avium-intracellulare* o un blanco de agua con disco de urea.

Esta técnica se basa en que las micobacterias, (y fundamentalmente las de crecimiento rápido), son capaces de hidrolizar la urea y producir amoníaco. Por el contrario no todos los crecedores lentos tienen ésta actividad por lo que lo usaremos como caracter diferencial entre ellos.

Prueba de la Arylsulfatasa .

Esta técnica está basada en la capacidad que tienen ciertas micobacterias para romper los ésteres sulfato mediante la enzima arylsulfatasa dejando libre el radical aryl.

Esta prueba es fundamental para la diferenciación de crecedores rápidos y para la diferenciación de *M. avium* y *M. xenopi* cuando ambos alteran la producción del pigmento

Técnica.

A un tubo con medio líquido M7H9, al cual se le ha añadido disulfato potásico de fenoftaleína a concentración 2.5 ml/200ml del medio, añadir un asa llena de bacilos. Incubar tres días, en crecedores rápidos y 14 días en crecedores lentos. Después de la incubación se añade 6 gotas de Carbonato sódico, (1M).

La reacción positiva (viraje de color) es de un rosa intenso como consecuencia de la hidrólisis del éster y la liberación de fenoftaleína. Si la reacción es negativa no hay viraje de coloración.

Técnica de Wayne

Se Emplea en crecedores rápidos y se usa el medio de BBL.

Medios y Reactivos.

Medio de Wayne.

Solución de carbonato sódico.

Técnica .

Añadir 2 gotas de agua destilada estéril a la superficie inclinada del agar y emulsionar un asa llena de bacilos.

Incubar 37 °C durante 3 días.

Lectura:

Añadir 1 ml de Carbonato sódico 1/M, y esperar 30 minutos. En caso de positividad, aparecerá un color rojo púrpura en la superficie del agar.

Controles: *M. fortuitum* como positivo, y, *M. avium-intracellulare* como negativo.

Crecimiento en Mc-Conkey .

Todos los crecedores rápidos se inocularán en medio de McConkey. Esto nos servirá para confirmar el diagnóstico de *M. fortuitum complex* , *M. chelonae* y *M. peregrinum* .

Medio:

Agar McConkey.

Técnica:

De una densa emulsion de bacilos o mejor de un cultivo de 7 días en M7H9, con OADC, sembrar un asa sobre la superficie del medio.

Lectura:

Se realizará a los 5-11 días, comprobándose la existencia o no existencia de crecimiento.

Crecimiento en presencia de ClNa al 5% .

Técnica.

Se obtiene inoculando la superficie de Lowenstein con ClNa al 5% e inoculando 0,1 ml de la suspensión del cultivo en agua destilada.

Al mismo tiempo se pondrá otro tubo de Lowenstein con 0,1ml de la misma suspensión del cultivo, pero sin ClNa.

Si se obtiene crecimiento en ambos tubos, después de 2-3 semanas de incubación, se considerará como la prueba

positiva.

Si se obtiene crecimiento solamente en el tubo que no contiene ClNa se considera como la prueba negativa.

Esta prueba permite diferenciar las micobacterias de crecimiento rápido, como por ejemplo *M. Chelonae* sp, en las cuales, la variedad *M. chelonae* sp *chelonae* es negativa, y la variedad *M. chelonae* sp *abscessus* es positiva.

Otras micobacterias con esta prueba positiva son: *M. flavescens* , *M. smegmatis* y *M. triviale* .

Prueba de reducción del telurito potásico .

Se realizará en los crecedores lentos no cromógenos.

Empleamos el M7H9, distribuido en tubos de 18X150 mm de tapón de rosca, al cual se le añade OADC.

Reactivo:

Telurito potásico al 0,2%, esterilizado en autoclave 10 minutos a 121 °C.

Técnica:

Inocular M7H9 con un asa llena de bacilos.

Incubar durante 7 días.

Añadir dos gotas de telurito potásico a cada tubo de cultivo.

Reincubar 3 días a 37 °C.

A los tres días de incubación realizar la lectura, sin agitar los tubos.

Reacción (+): Precipitado negro metálico en el fondo del tubo.

Reacción (-): Ausencia de precipitado negro metálico.

De las micobacterias de crecimiento lento solo presentan esta reacción positiva a los tres días *M. avium* - *intracellulare* .

De los crecedores rápidos: *M. phlei* , *M. tanophaeos* y *M. chelonae* , la suelen presentar negativa. El resto suelen ser positivos.

Prueba de transformación del citrato férrico amoniacal.

1.- Fundamento.

Se basa en la reducción de este compuesto a óxido de hierro, de color pardo, por parte de algunas micobacterias

Reactivos:

Tubos de Lowenstein-Jensen.

Citrato férrico amoniacal.

Cultivo:

Un Lowenstein en pleno crecimiento.

Técnica.

Se pone en el fondo de un tubo conteniendo medio de Lowenstein 1 ml de solución acuosa de citrato férrico amoniacal, sin manchar la superficie del medio.

Se mantiene en posición vertical.

Se siembra 0,2 ml de suspensión bacilar en la superficie del medio y se incuba en posición vertical a 37 °C.

Lectura:

Resultado (+): Aparición en el cultivo de una pigmentación parda por encima del nivel del líquido.

Resultado (-): Ausencia de pigmentación.

Control (+): *M. fortuitum*.

Control (-): *M. chelonae*.

Es muy útil para diferenciar *M. chelonae*, que suele ser negativo, de *M. fortuitum* y de otros crecedores rápidos que son positivos.

Pero en ocasiones es necesario realizar las siguientes pruebas a las micobacterias crecedoras rápidas:

Fermentación de azúcares .(Tsukamura,1966)

Se utiliza para el diagnóstico diferencial de las micobacterias de crecimiento rápido, pues las de crecimiento lento apenas tienen actividad sacarolítica.

Medio base:

Extracto de levadura.....0,20 gr.

Fosfato monopotásico.....0,5 gr.

Sulfato amónico.....2,60 gr.

Agar purificado.....20 gr.
Agua destilada.....980 ml.
Azul de bromotimol (sol.acuosa al 0,2%)..20 ml.
Solución madre de azúcar al 20%.....25 ml.

En su preparación se pueden autoclavar todos los componentes excepto el azúcar que se añadirá posteriormente para ser tindalizado. Este medio quedará de color azul y es conveniente dejarlo solidificar en plano inclinado.

Técnica:

Inocular en cada tubo de azúcares 0,1ml de una emulsión bacteriana de bacilos correspondiente al Nº 1 de la escala de McFarlan. Incubar durante 10 días a 37 °C.

Lectura.

Reacción (+): Viraje al amarillo.

Reacción (-): No hay viraje.

El cambio de coloración demuestra la fermentación del azúcar que dará un pH ácido y como el indicador es el azul bromocresol en medio ácido da coloración amarilla.

Prueba de las amidas .

Fundamento:

Se basa en el estudio de las actividades enzimáticas de las micobacterias frente a distintas amidas, comprobando mediante una serie de reactivos adecuados (Nessler o Russell) la presencia de amoníaco producido al desaminar una u otra amida problema.

Reactivos:

1.- Soluciones madres de las distintas amidas, en 10 ml de agua destilada estéril, esterilizadas por filtración, o mantenidas a baño María a 100 °C durante 30 minutos.

Acetamida.....9,68 mgr.
Benzamida.....19,84 mgr.
Urea.....9,84 mgr.
Isonicotinamida.....20 mgr.
Nicotinamida.....20 mgr.
Piracinamina.....20 mgr.

Alantoina.....26 mgr.
Succinamida.....19 mgr.

Para las pruebas se usan diluciones al 1/10 de las soluciones madre en agua destilada estéril.

2.- Solución madre de tampón fosfato:

PO_4KH_2 en 1000 ml de agua destilada.....9,078 gr.

$\text{PO}_4\text{Na}_2\text{H}$ en 1000 ml de agua destilada estéril.11,676 gr.

Autoclavar a 120 °C durante 10 minutos ambas soluciones por separado y en frascos limpios, que no contengan restos del fosfato sódico.

3.- Solución de Nessler o Russell.

Disolver 8 gr de Ioduro potásico y 11,5 gr de Ioduro mercurio en 20ml de agua destilada. Enrasar hasta 50ml de agua.

Añadir 50 ml NaOH 6N, dejar reposar durante 24 horas antes de utilizar.

Técnica:

a.- Depositar 0,5 ml de la solución de amida en un tubo de hemólisis con tapón de rosca.

b.- Añadir 0,5 ml de una solución de bacilos realizada en tampon M/15.

c.- Incubar los tubos durante 4 horas en el caso de crecedores rápidos y 16 horas en el caso de crecedores lentos.

d.- Añadir unas gotas del reactivo de Nessler.

e.- Poner los tubos durante 15 minutos al baño María.

Lectura:

Reacción (+): Coloración ámbar.

Reacción (-): Incolora.

Prueba de termorresistencia .

Se realiza para diferenciar *M. phlei* y *M. thermoresistibile* .

Se determina introduciendo una emulsión de bacilos en una ampolla cerrada a la llama, que se somete a 60 °C durante 4 horas en un baño María.

Transcurrido este tiempo se hace un inóculo de la ampolla en medio de Lowenstein así como también de la suspensión no sometida al calor. Se incuba y se verá la resistencia o no según haya o no crecimiento en el tubo que ha sido sometido al calor.

2.5.5. IDENTIFICACION DEL GRUPO MOTT A PARTIR DE UN CULTIVO CRECIDO .

Ante el crecimiento de micobacterias no cromógenas, se nos pueden plantear las siguientes situaciones:

A.- Si el nitrato hubiese sido negativo, en la prueba previa realizada de un tubo de cultivo en medio de Lowenstein-Jensen, pero si hubiese crecido en TCH, se realizará la prueba del Tween 80. Si fuese positiva identificáramos un *M. gastri*; pero si fuese negativa podría ser un *M. avium-intracellulare* y habría que confirmarlo poniéndolo en incubación a 42 °C temperatura en la que sí crecería. Al mismo tiempo, se realiza la prueba de la reducción del telurito potásico que podría ser positivo. Aunque es un germen que presenta poca actividad frente a las reacciones bioquímicas. Figuras 8 y 9.

Macroscópicamente *M. avium-intracellulare*, en el medio de Lowenstein-Jensen, da lugar a colonias lisas, pequeñas, mucosas, que se desarrollan entre quince y treinta días. Suelen ser viscosas y adherentes al medio, a veces pueden tener tonalidad amarillenta, por lo que se habla de cepas pigmentadas.

B.- Si la reducción de nitratos hubiese sido positiva, y hubiese crecimiento en Lowenstein con TCH, se realizará la prueba de crecimiento en Lowenstein con ClN_a al 5%. Si creciese en este medio sería *M. triviale*, sino creciese sería *M. terrae*. Incluso la prueba de la pirazinamida que es negativa en *M. triviale*. Tabla 7.

Ante micobacterias pigmentadas se nos pueden plantear las siguientes situaciones:

A.- Se trata de una micobacteria de crecimiento lento y que realizada la prueba de pigmentación, Figura 10, ha desarrollado pigmento en el tubo expuesto a la luz y no

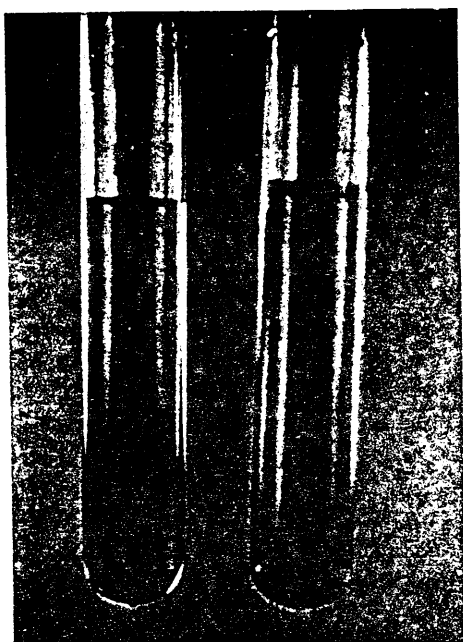


Figura 3. Prueba de la Hidrólisis del Tween 80.

Tubo de la izquierda reacción negativa.

Tubo de la derecha reacción positiva.

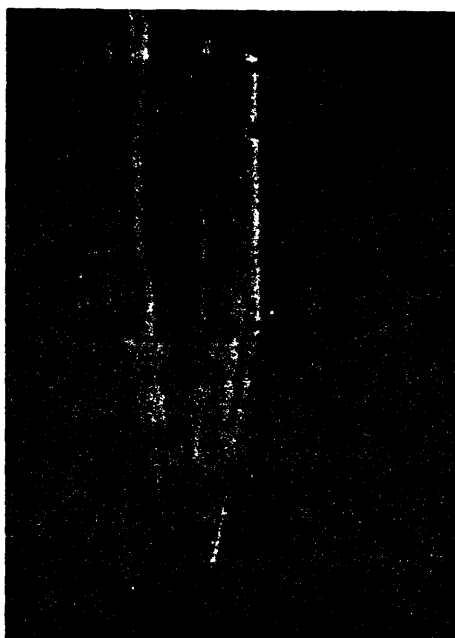


Figura 3. Reacción positiva de la reducción del
Telurito potásico

TABLA 7

IDENTIFICACION DEL GRUPO MOTT NO CROMOGENO

MICROORGANISMO	NO ₃	ClN ₂ 5%	Tween80	PZA 4d/ 7d	Cat.682C
M.avium complex	-	-	-	+	+
M. gastri	-	-	+	-/+	-
M.terrae/complex	+	-/+	+	+/+	+
M. triviale	+	+	+	-	+
M. xenopi	-	-	-	+	+
M. malmoense	-	-	+	+	V
M. haemophilum	-	-	-	+	-



Figura 10.- Estudio de la Pigmentación.
Tubo de la izquierda con pigmento.
Tubo de la derecha tapado .

en el tapado con papel de aluminio, es decir **FOTOCROMOGENA** Figura 3. Se realizarán las siguientes pruebas:

1.- Reducción de nitratos, si esta prueba es positiva se identificará como: *M. kansasii* .

Macroscópicamente en medio de Lowenstein-Jensen presenta colonias rugosas a veces mucosa y con la foto inducción toman un color amarillo limón.

2.- Si la prueba de la reducción de nitratos es negativa debemos realizar la hidrólisis del Tween 80, si fuese positiva se podría tratar de dos micobacterias diferentes: *M. marinum* y *M. asiaticum*, que las diferenciaremos por la prueba de la ureasa, Figura 11, que es negativa en *M. asiaticum* y por el crecimiento a 30 °C que crecería solamente *M. marinum* .

Macroscópicamente *M. marinum* crece en medio de Lowenstein-Jensen, en menos de siete días, y las colonias pueden ser mucosas o rugosas. *M. asiaticum* es de crecimiento disgónico; a veces falla en la producción de pigmento y las colonias suelen ser mucosas, pero a veces son rugosas. A veces *M. marinum* y *M. asiaticum* dan las mismas reacciones bioquímicas pero será su localización lo que fundamentalmente les diferencie, *M. marinum* en superficies cutáneas y el crecimiento a 30°C.

3.- Si la prueba del nitrato es negativa, así como también la hidrólisis del Tween 80, se identificará como *M. simiae*, que a su vez es una micobacteria que puede tener la prueba de la niacina positiva. Tabla 8.

Macroscópicamente son de crecimiento muy lento con colonias lisas en el medio de Lowenstein-Jensen. Es la micobacteria de este grupo que mejor define su pigmentación y no conduce a errores.

B.- Se puede tratar de una micobacteria cuyo pigmento se ha desarrollado tanto en el tubo expuesto a la luz como en el que ha permanecido en la oscuridad, es decir **ESCOTOCROMOGENA**, Figura 4, realizaremos en este caso las pruebas siguientes:

- 32 -

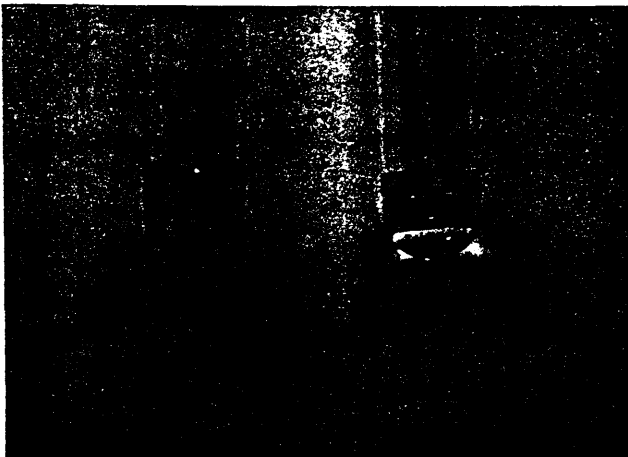


Figura 11.- Prueba de la ureasa.
Tubo de la izquierda reacción positiva.
Tubo de la derecha reacción negativa.

TABLA 8.

IDENTIFICACION DEL GRUPO FOTOCROMOGENO.

PRUEBAS	M. kansasii	M. marinum	M. simiae	M. asiaticum
H.TWEEN 80	+	+	-	+
REDUC. NO ₃	+	-	-	-
NIACINA	-	-/+	+	-
UREASA	+	+	+/-	-
ARYLSUL- FATASA 2semanas	-/+	++	-/+	-/+

TABLA 9.

IDENTIFICACION DEL GRUPO ESCOTOCROMOGENO .

PRUEBAS	M.escrofu fulaceum	M.szul- gai	M.xeno- pi.	M.gordo nae.	M.flaves cens.	MAIS	
H.TWEEN 80	-	+ débil	-	+	+	-	+
REDUC. NO ₃	-	+	-	-	+/-	-	-
TOLERAN- CIA.ClN _a	-	-	-	-	+/-	-	-
UREASA	+	+	-	-/+	+	+	-
ARYLSUL- FATASA 2semanas	-/+	-/+	+ 3 días	-/+	+	-	-

1.- Reducción de nitratos, si éstos fuesen positivos diferenciar con el crecimiento en medio de Lowenstein con ClN_2 al 5%; si hay crecimiento se identificará como *M. flavescens*, si no hubiese crecimiento se identificará como *M. szulgai*, esta micobacteria desarrolla pigmento según a la temperatura sometida, así a 25 °C se comporta como Fotocromógena, a 35 °C se comporta como Escotocromógena. Tabla 9.

Macroscópicamente *M. flavescens* presenta características de crecimiento entre los crecedores rápidos y los lentos.

2.- Si la reducción de nitratos hubiese sido negativa realizaremos la prueba de la hidrólisis del Tween 80 que si resultase positiva se identificaría como *M. gordonae*, Figura 8, y si fuese negativa se realizaría la prueba de la ureasa, Figura 11, que si fuese positiva se identificaría como *M. scrofulaceum*, y si resultase negativa se identificaría como *M. xenopi*. Esta micobacteria a veces no produce pigmento, y también puede crecer a 42°C lo que creará problemas diagnósticos con *M. avium*. En este caso se realizaría la prueba de Arylsulfatasa en tres días dándole positiva *M. xenopi*. Tabla 9.

Macroscópicamente *M. gordonae* forma colonias que aparecen muy lentamente, lisas y brillantes. *M. scrofulaceum* es de crecimiento muy lento y da colonias brillantes, *M. xenopi* crece mejor a 42 °C dando colonias rugosas y más pigmentadas que las anteriores; cuando no presenta pigmento se diferenciará con las micobacterias No pigmentadas. Tabla 7.

C.- Puede tratarse de una micobacteria que crezca antes de los 7 días, Crecedor rápido, en cuyo caso se realizaría la reacción de la Arylsulfatasa. Figura 12.

Si fuese negativa se tratará de un crecedor rápido no patógeno ej: *M. smegmatis*, *phlei* etc...

Si fuese positiva se realizaría la reacción de reducción de los nitratos. Si resultase positiva se trataría de un *M. fortuitum* y si es negativa de un *M. chelonae*. Como

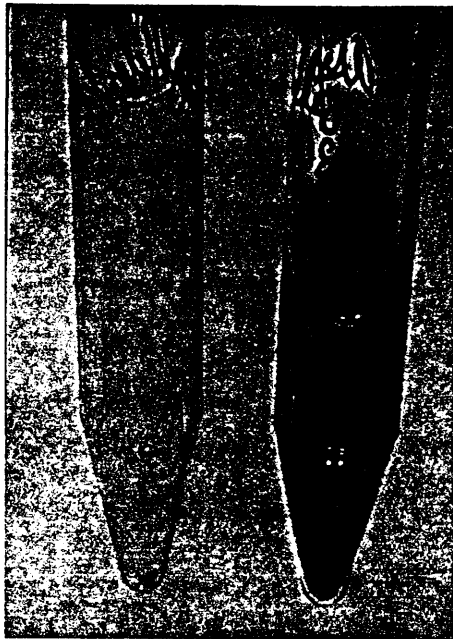


Figura 12.- Prueba de la Arylsulfatasa.
Tubo de la izquierda reacción negativa.
Tubo de la derecha reacción positiva.

hay dos subespecies se deberán distinguir con el crecimiento en ClN_a al 5%, si creciese sería un *M. chelonae* sp *abscesus*, y si no creciese sería un *M. chelonae* sp *chelonae* Tabla 10.

Las micobacterias de rápido crecimiento patógenas al hombre no son pigmentadas, y por consiguiente el estudio de la fotoinducción no es fundamental en este grupo.

2.5.6. RESUMEN DE PRUEBAS REQUERIDAS EN LA IDENTIFICACION DE MICOBACTERIAS. Tabla 11

CRECEDORES RAPIDOS :

- 1.- Prueba de la arylsultasa.
- 2.- Reducción de NO_3 .
- 3.- Crecimiento en medio con ClN_a al 5%.

FOTOCROMOGENOS:

- 1.- Reducción de NO_3 .
- 2.- Crecimiento a temperaturas a 30 °C y 35 °C.
- 3.- Reducción del Tween 80.

ESCOTOCROMOGENOS:

- 1.- Reducción de NO_3 .
- 2.- Hidrólisis del Tween 80.
- 3.- Prueba de la ureasa.
- 4.- Prueba de la arylsulfatasa.
- 5.- Crecimiento en medio con ClN_a al 5%.

NO CROMOGENOS:

- 1.- Prueba de la niacina.
- 2.- Reducción de NO_3 .
- 3.- Hidrólisis del Tween 80.
- 4.- Reducción del telurito potásico.
- 5.- Prueba de la Catalasa a 37 °C a 68 °C.
- 6.- Lowenstein con TCH

TABLA 10.

IDENTIFICACION DEL GRUPO CRECEDORES RAPIDOS .

Arylsulfatasa	(-) M. saprofitas (M. smegmatis, M. phlei)		
	(+) NO3	(+) M. fortuitum	(+) M. chelonae sp abscesus
		(-) ClNa	(-) M. chelonae sp chelonae

Sembrar en Mac-Conkey, crecen M. fortuitum y M. chelonae.

TABLA 11

**RESUMEN DE PRUEBAS FUNDAMENTALES EN LA IDENTIFICACION DE
MICOBACTERIAS**

RAPIDOS CRECEDORES	FOTOCROMOGENOS	ESCOTOCROMOGENOS	NO CROMOGENOS
ARYLSULFATA SA. NO ₃ reducción Crecimiento en ClN _a .5% y en Mac-Conkey	NO ₃ reducción. TEMPERATURAS A 30° C y 35° C UREASA	NO ₃ reducción TWEEN 80 UREASA ARYLSULFATASA Crecimiento en ClN _a 5%	NIACINA NO ₃ reducción TWEEN 80 TELURITO POTA- SICO reducción CATALASA CRECIMIENTO EN TCH

2.6 DIAGNOSTICO DE PACIENTES INFECTADOS POR M. TUBERCULOSIS .

Se realiza la prueba standarizada por la OMS en 1954, y admitida para su uso general, la intradermorreacción de Mantoux.

Se utilizan jeringas de 1ml, de las de insulina, graduada en décimas y con agujas cortas y delgadas de 10 a 15mm de largo por 0,3mm de calibre.

En la cara anterior del antebrazo, y estirando la piel, se inyectan 0,1ml de PPD-RT23; es necesario en algunas ocasiones, administrar 3 dosis, sobre todo ante los estados de anergia, para valorar la respuesta.

Las dosis inyectadas serán: una primera de 1UT, en caso de no tener positividad se administrará una segunda dosis de 2UT y un tercera dosis, en caso de negatividad de las anteriores, de 5UT.

LECTURA:

Se hacen las lecturas a las 48-72 horas, en cada prueba, y se considerará reacción positiva aquella cuya induración sea superior o igual a 10mm, las reacciones entre 5-9mm se considerarán dudosas y las que estén entre 0-4mm como negativas.

Hay que medir cuidadosamente en mm el tamaño de la induración pero nunca valorar sólo el enrojecimiento.

Por ser conocidas las diferentes tuberculinas, se incluye su descripción en el apartado ADDENDUM.

2.7 NORMAS DE SEGURIDAD QUE DEBEN OBSERVARSE EN UNA SECCION DE MICOBACTERIAS .

No debe olvidarse que el trabajo en micobacterias se puede calificar como uno de los más peligrosos, que se pueden realizar en un Laboratorio de Microbiología, por lo que hay que extremar las normas de seguridad en el trabajo de las personas que a él se dediquen. Habrá que considerar los siguientes apartados:

A.- Protección del personal.

- .- Practicar a todo el personal la intradermorreacción de Mantoux y seguir a los convertidores.
- .- Examen radiológico cada 6 meses.
- .- Educación sanitaria : no comer, fumar ni hablar en el laboratorio.
- .- Emplear prendas protectoras: guantes, gorros, mascarillas.
- .- Impedir entrada a personas extrañas al Laboratorio.

B.- Protección durante el trabajo:

- .- Recipiente con solución micobactericida.
- .- Toallas impregnadas en solución de fenol al 5%.
- .- Gradillas estables que eviten roturas.
- .- Pipetas de un solo uso manuales.
- .- Evitar maniobras bruscas.
- .- Transporte adecuado del material.

C.- Normas de seguridad al finalizar el trabajo.

- .- Limpiar la mesa y superficie de campanas con solución de fenol al 5%.

- 5 -
- .- Lavarse las manos y uñas con desinfectante o jabón.
 - .- Cerrar llaves de agua o de gas con papel desechable.
 - .- No sacar del Laboratorio la ropa de protección.
 - .- Esterilizar todo el material contaminado.
 - .- Esterilizar las batas antes de lavarlas.
 - .- Esterilizar los portaobjetos de las tinciones antes de rechazarlos.

Normas en caso de accidente .

- 1.- Si se derrama un producto contaminado, cubrirlo con papel de filtro impregnado en fenol al 5%, y dejarlo actuar durante media hora antes de recogerlo.
 - .- Abandonar el área contaminada durante media hora.
- 2.- Si se produjese una rotura en el interior de una centrífuga se deben seguir las siguientes normas:
 - .- No abrirla hasta transcurrida media hora.
 - .- Verter fenol al 5% en el interior contaminado, dejándolo actuar durante media hora.
 - .- Transcurrido ese tiempo, retirar el material contaminado.
 - .- Fregar el interior de la centrífuga, primero con fenol al 5% y después con agua con lejía.

III.3 METODOLOGIA ESTADISTICA .

III.3 METODOLOGIA ESTADISTICA .

Los datos aquí obtenidos se han procesado en un ordenador "Philips" modelo.P 3.102; con un sistema operativo "D.O.S.2.2". El análisis estadístico se ha realizado con el paquete de programas estadístico "SIGMA".

Para la valoración estadística de nuestros resultados hemos utilizado una serie de parámetros, (250), que son:

A.- RELACION DE EDAD Y SEXO.

En la comparación del porcentaje de varones, en la población de este estudio y el de varones en la población normal, se ha utilizado el Test de comparación de una proporción observada a una teórica (250).

B.- ESTUDIOS DE SUPERVIVENCIA:

Se ha realizado un análisis de supervivencia a través de "Tablas de vida" en:

1.- La población total de pacientes con SIDA que han sido estudiados en este trabajo.

2.- La comparación de la supervivencia entre los pacientes con SIDA que no presentaron tuberculosis, y los que tuvieron infección diseminada por micobacterias.

C.- TEST DE LA χ^2 .

Se ha aplicado en el estudio siguiente (250).

1.- Relación de la presentación o no de la tuberculosis, y de ésta la forma clínica diseminada, en relación con factores de riesgo: drogadicción IV y otros.

2.- Relación de la presentación de infecciones oportu-

tunistas en relación con el sexo.

3.- Relación de la presentación de la tuberculosis diseminada entre la población normal y la población con SIDA, aquí estudiada.

4.- Relación de la supervivencia entre pacientes con SIDA con y sin tuberculosis.

D.- SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD .

Se ha utilizado en :

1.- Las tinciones de las diferentes muestras estudiadas, para precisar su sensibilidad y especificidad en relación con los cultivos positivos obtenidos .

2.- La valoración de la prueba de Mantoux como marcador epidemiológico en esta población.

3.- La valoración de los hallazgos histológicos y los datos microbiológicos, en las muestras de biopsias.

Para la evaluación de los criterios de Sensibilidad y Especificidad se utilizaron las siguientes fórmulas: (250).

$$\text{SENSIBILIDAD} = \frac{\text{VP}}{\text{VP} + \text{FN}} \times 100.$$

$$\text{ESPECIFICIDAD} = \frac{\text{VN}}{\text{VN} + \text{FP}} \times 100.$$

E.- MODELO PREDICTIVO.

Se ha aplicado en dos parámetros:

1.- En las tinciones realizadas para valorarlas en relación con los cultivos positivos obtenidos.

2.- En los hallazgos histológicos con la evidencia o no de la formación de granulomas.

Se han aplicado las siguientes fórmulas:

$$\text{VALOR PREDICTIVO POSITIVO} = \frac{\text{VP}}{\text{VP} + \text{FP}} \times 100.$$

$$\text{VALOR PREDICTIVO NEGATIVO} = \frac{\text{VN}}{\text{VN} + \text{FN}} \times 100.$$

$$\text{PRECISION DIAGNOSTICA} = \frac{\text{VP} + \text{VN}}{\text{VP} + \text{FP} + \text{VN} + \text{FN}} \times 100.$$

F.- APLICACION DE LA "U DE MANN-WHITNEY".

Se ha utilizado en:

La comparación del Índice de los Linfocitos CD₄/CD₈ en relación con: vivos, muertos, así como con la presentación o no de la tuberculosis ya que es un test no paramétrico y en este caso utilizado por no seguir, el parámetro aquí estudiado, una distribución Gausiana.

VI. RESULTADOS .

IV RESULTADOS

IV.1 Población estudiada .

En un periodo de 4 años, que comprende desde julio de 1.983 hasta el primer semestre del año 1987, se ha realizado en el Hospital General Gregorio Marañón de Madrid, el diagnóstico de SIDA en 100 pacientes en relación con la presencia de infecciones severas o tumores que ponen en evidencia la existencia de un defecto en la inmunidad celular sin otra causa aparente que lo justifique, según el concepto que el CDC exige para el diagnóstico de estos pacientes, que presentan infección por HIV.

El primer caso fue diagnosticado en nuestro Hospital en julio de 1.983, en el año 1.984 se diagnosticaron 3 casos, durante el año 1.985 el diagnóstico se realizó en 16 pacientes, en el año 1.986 el diagnóstico se hizo en 42 pacientes y en el primer semestre del año 1987 se diagnosticaron 38 pacientes, a diferencia con el primer semestre del año anterior en el que el número de casos diagnosticados del síndrome fue de 15.

En la Figura 13 se refleja la incidencia de SIDA en los diferentes años que comprende este trabajo.

1.1 RELACION DE EDAD Y SEXO .

De los 100 pacientes 86 fueron varones y 14 mujeres. Las edades estaban comprendidas entre 16-76 años, con una edad media 28,29 y con una desviación standard de 7,27.

El 67% de los pacientes tenían edades entre los 20-30 años, el 28% tenían edades entre los 30-40 años, el 3% tenían edades superiores a 40 años y el 2% tenían edades inferiores a 20 años. En la Figura 14 relacionamos los casos estudiados con la edad.

Varones.....86 (86%).

Mujeres.....14 (14%).

El porcentaje de varones es significativamente superior al de mujeres ($p < 0,005$).

FIGURA 13.

PACIENTES DIAGNOSTICADOS DE SIDA EN EL HOSPITAL
GENERAL GREGORIO MARAÑÓN DURANTE EL PERIODO DE ESTUDIO QUE
COMPRENDE ESTE TRABAJO.

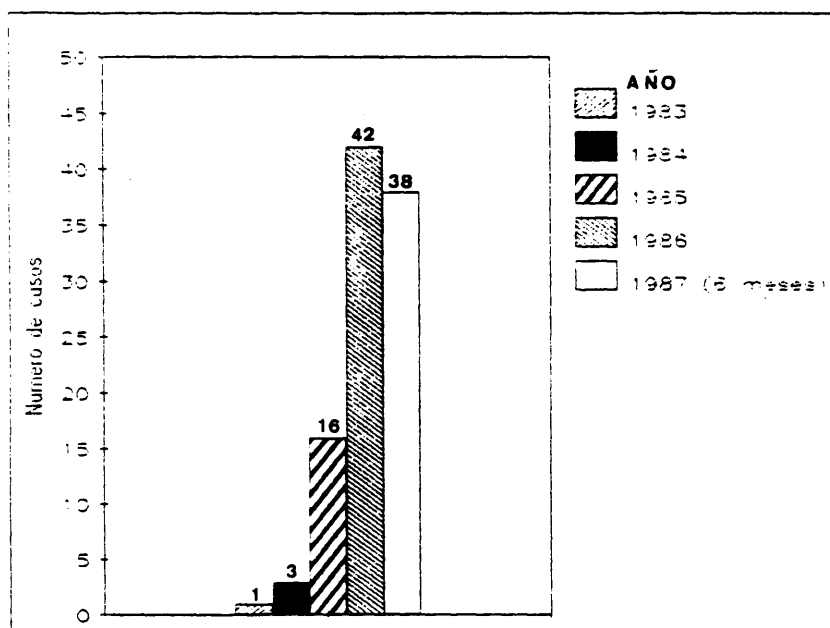
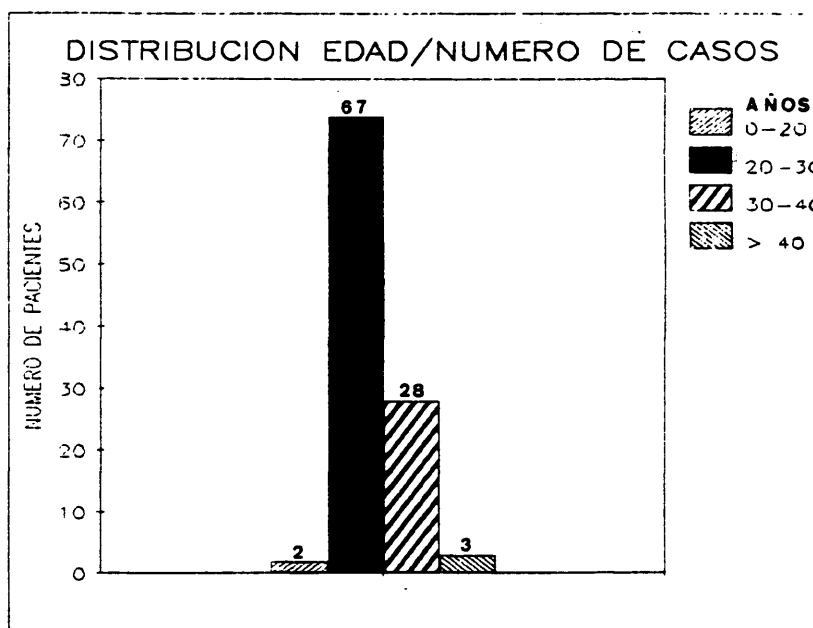


FIGURA 14.

DISTRIBUCION DE EDAD Y NUMERO DE CASOS DE PACIENTES CON SIDA.



IV.2 EPIDEMIOLOGIA.

2.1 FACTORES DE RIESGO

Entre los factores de riesgo, el más importante, en este estudio, fue el de la drogadicción IV, con un número total de 78 pacientes y que representó el 78%, a este factor le siguió en importancia el de homosexualidad, con un número total de 10 pacientes, representando el 10%.

En la Tabla 12 se relacionan todos los factores de riesgo que se presentaron en los pacientes aquí estudiados.

De los pacientes que no declararon tener algún factor de riesgo, uno de ellos mantenía relaciones esporádicas con prostituta adicta y los otros que no confesaron tener alguno, uno de ellos era de origen Centroafricano.

2.1.1 RELACION DE LOS FACTORES DE RIESGO CON EL SEXO .

La frecuencia de presentación de los factores de riesgo en relación con el sexo se encuentra representada en la Tabla 13. En ambos sexos predominó como factor de riesgo más importante el de la drogadicción IV. En varones le sigue el de la homosexualidad.

El porcentaje de la drogadicción fue estadísticamente el mismo en ambos sexos; en varones representó el 77,90% y en mujeres el 78,57%.

2.2 INFECCIONES OPORTUNISTAS

Del total de estos pacientes estudiados el diagnóstico del SIDA se hizo en todo HIV (+) con infecciones o tumores, según las normas que el CDC exigía en la revisión de 1986.

De estas infecciones oportunistas la que con más frecuencia se presentaron fueron: esofagitis por *Candida albicans*, con un porcentaje del 73%, seguida de encefalitis por *Toxoplasma gondii*, con un porcentaje del 22% y por las infecciones pulmonares por *P. carinii* que representaron el 20%. Seguidos, por porcentajes más bajos, las oca-

TABLA 12.

RELACION DE LOS FACTORES DE RIESGO EN LOS
PACIENTES ESTUDIADOS.

FACTORES DE RIESGO	PACIENTES n= 100
Homosexuales	10
Adictos IV	78
Adicto + homosexual	5
Adicto + transfusión	1
Transfusión	1
Pareja sexual HIV +	2
No factores	3

TABLA 13.

RELACION DE LA PRESENTACION DE LOS FACTORES DE
RIESGO Y EL SEXO.

FACTORES DE RIESGO	VARONES n=86	MUJERES n=14
Homosexualidad	10	0
Adicto IV	67	11
Homosex+Adicto IV	5	0
Adicto + Transfusión		1
Transfusión	1	0
Pareja sexual HIV+	0	2
No factores	3	0

sionadas por: sarcoma de Kaposi, infección diseminada por Herpes simplex, linfoma de alto grado de malignidad, etc

En la Tabla 14 se detallan todas las infecciones y tumores que permitieron el diagnóstico del síndrome, y ya se incluyen los nuevos conceptos de la última revisión del CDC, aunque cuando se terminó este trabajo aún no habían sido admitidos por la OMS, y por consiguiente en la selección de los pacientes no se consideraron como SIDA los pacientes con infección extrapulmonar o diseminada por *M. tuberculosis*.

Pero en estos resultados si se valora la presentación de tuberculosis extrapulmonar o diseminada en relación con la presentación de otras infecciones oportunistas diagnósticas del síndrome.

2.2.1 RELACION DE LAS INFECCIONES OPORTUNISTAS CON EL SEXO .

De los 73 pacientes diagnosticados de esofagitis por *C. albicans* 62 eran varones y 11 mujeres.

De los 20 pacientes diagnosticados de infección pulmonar por *P. carinii* 18 eran varones y 2 mujeres.

De los 22 pacientes diagnosticados de encefalitis por *T. gondii* 21 eran varones y 1 mujer.

De los 4 pacientes diagnosticados de encefalitis subaguda 3 eran varones y 1 mujer.

De los 44 pacientes con infección diseminada por *M. tuberculosis* 37 eran varones y 7 mujeres.

De los 10 pacientes con infección diseminada por CMV, 5 pacientes con infección diseminada por *H. simplex* 4 pacientes diagnosticados de linfoma de alto grado de malignidad, 1 paciente diagnosticado de linfoma cerebral primario, 6 pacientes diagnosticados de sarcoma de Kaposi 2 pacientes diagnosticados de infección por *Cryptosporidium*, 1 paciente diagnosticado de leucoencefalopatía multifocal progresiva, y 1 paciente con infección diseminada por *M. avium*, todos eran varones.

TABLA 14.

INFECCIONES OPORTUNISTAS DIAGNOSTICAS DE SIDA .

INFECCIONES o TUMORES	PACIENTES n= 100
Esofagitis por Candida	73
I. Pulmonar por P. carinii	20
I. Diseminada por CMV	10
Encefalitis por T. gondii	22.
I. Diseminada por Herpes simplex	5.
Linfoma de alto grado de malignidad	4.
Linfoma cerebral primario	1.
Sarcoma de Kaposi	6.
Cryptosporidium	2.
Encefalitis subaguda	4.
PML	1.
I. Recurrente por Salmonella	3
I. Diseminada por M. tuberculosis	44
I. Diseminada M. avium-intracellulare	1
I. Extrapulmonar por M. tuberculosis	11

De las infecciones oportunistas sólo la infección por micobacterias se presentó de forma estadísticamente distinta en el grupo de varones (84,44%), que en el de mujeres (50%), con una $p < 0.05$.

En el resto de estas infecciones no hay diferencias significativas en relación con el sexo.

IV.3 ESTUDIO DE SUPERVIVENCIA EN PACIENTES CON SIDA .

Desde que se realizó el diagnóstico de SIDA, en los pacientes estudiados, viven 33, 36,26%, han fallecido 58, 63,73%, y se han perdido 9 en su seguimiento. En este estudio de supervivencia se han eliminado, además de los 9 perdidos en su seguimiento, 21 que fallecieron en el momento del diagnóstico o en los 35 días siguientes; quedando un total de 70 pacientes. Figura 15.

El tiempo de seguimiento en los pacientes estudiados tiene un rango desde 0 a 1030 días, con una media de 186.33 y con una desviación standard de 18.49.

IV.4 INFECCION POR MICOBACTERIAS .

Del total de estos 100 pacientes con SIDA el diagnóstico cierto de tuberculosis se hizo en 69,(69%), con aislamiento de micobacterias en las diferentes muestras clínicas que de estos pacientes recibimos.

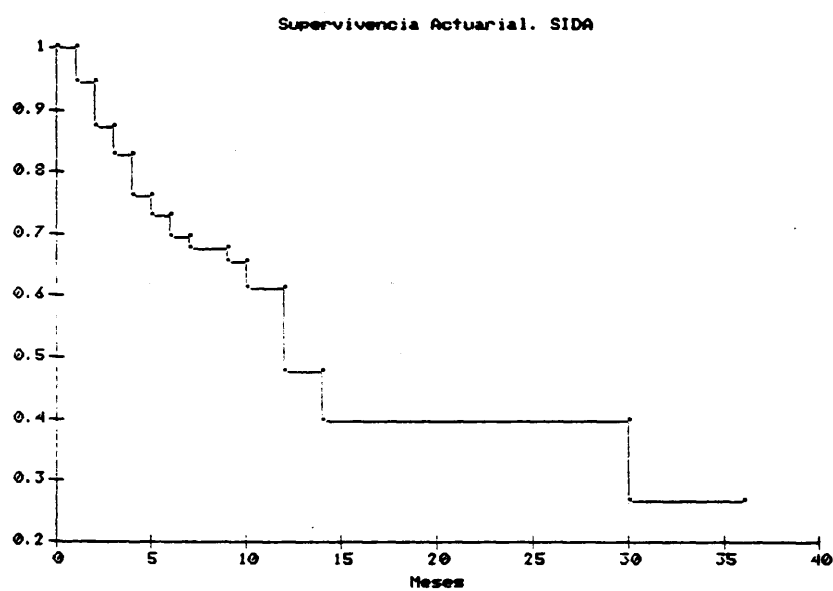
La infección por micobacterias se definió como: diagnóstico probable ante la visualización de BAAR, en las tinciones realizadas a las muestras clínicas, y de necropsia, procedentes de estos pacientes; diagnóstico cierto al aislamiento e identificación de las micobacterias obtenidas en los cultivos realizados a dichas muestras clínicas.

4.1 DIAGNOSTICO PROBABLE DE INFECCION POR MICOBACTERIAS

Para el diagnóstico de infección por micobacterias recibimos un total de 635 muestras de los pacientes estu-

FIGURA 15.

ESTUDIO DE LA SUPERVIVENCIA EN PACIENTES CON SIDA.



diados, estas muestras representan un porcentaje de 6,3% por paciente.

En el total de 635 muestras enviadas para el cultivo de micobacterias se realizaron tinciones, para la visualización de BAAR, en 578. No se realizó tinción en: 5 LCR, 3 biopsias cerebrales, 3 abscesos y 1 biopsia cerebral, por enviar escasa cantidad de muestra y sembrarse sólo en medios líquidos de enriquecimiento. (Middlebrook 7H9+ADC).

En 45 orinas tampoco se realizó la tinción ya que en estas muestras no la realizamos de forma rutinaria. De las tinciones realizadas obtenemos visualización de BAAR en 190 (32,87%)

4.1.1 SENSIBILIDAD Y ESPECIFICIDAD DE LAS TINCIONES PARA VISUALIZACION DE BAAR.

Esta tinción tuvo, con relación a los cultivos positivos obtenidos, una sensibilidad del 82,96%, una especificidad del 99,74%, un valor predictivo del test positivo del 99,47% y un valor predictivo del test negativo del 90,86%. Con una precisión diagnóstica del 93,52%.

4.2 DIAGNOSTICO CIERTO DE INFECCION POR MICOBACTERIAS .

Se hizo con el aislamiento e identificación de micobacterias en los cultivos realizados. Del total de las 635 muestras procesadas obtuvimos 229 cultivos positivos, 36,06%, con crecimiento de estos microorganismos y que fueron identificados por nosotros.

Estas muestras procedían de diferentes localizaciones como se explica en la Tabla 15.

4.2.1 RENTABILIDAD DIAGNOSTICA DE LAS MUESTRAS ESTUDIADAS PARA EL AISLAMIENTO DE MICOBACTERIAS .

A.- MUESTRAS TOTALES .

De las 635 muestras procesadas para aislamiento de

TABLA 15.

RELACION DE MUESTRAS TOTALES PARA CULTIVO DE MICOBACTERIAS CON LA TINCION DE AURAMINA Y LOS CULTIVOS POSITIVOS.

PROCEDENCIA	MUESTRAS n= 635	AURAMINAS + n= 190	CULTIVOS + n= 229
Respiratorias	300	93	99 (33%).
L.C.R.	61	2	5 (8,19%).
Adenopatias	34	29	31 (91,17%).
Biopsia cerebral	3		2 (66,66%).
Abcesos	3		0.
Biopsia esplénica	7	6	7 (100%).
Biopsia hepática	7	7	7 (100%).
Biopsia médula	4	1	3 (75%).
Biopsia de colon	1	0	0
Orinas	161	20	40 (24,84%).
Hemocultivos	51	30	33 (64,71%).
L. peritoneales	3	2	2 (66,66%).

micobacterias, en 229 obtuvimos cultivos positivos. Las muestras con más rentabilidad para el aislamiento de micobacterias fueron las procedentes de: biopsias esplénicas, hepáticas, adenopatías y médula ósea. Hay que hacer mención al número tan bajo de biopsias hepáticas, esplénicas y medulares recibidas.

Le sigue en rentabilidad: líquidos peritoneales y biopsias cerebrales, hemocultivos y muestras respiratorias. Baja rentabilidad mostraron las orinas y los LCR .

B.- MUESTRAS RESPIRATORIAS .

Las muestras respiratorias tuvieron una rentabilidad diagnóstica, sobre las muestras totales, del 43,23% .

Del total de 300 muestras enviadas de procedencia respiratoria, los cultivos positivos con crecimiento de micobacterias tuvieron lugar en 99, (33,33%), visualizándose BAAR en 93, (93,94%).

De las muestras respiratorias las que tuvieron más rentabilidad para el diagnóstico de tuberculosis fueron las siguientes biopsias: pleurales y pulmonares. Aunque hay que considerar el número tan escaso que de ellas recibimos.

La rentabilidad fue menor en las muestras procedentes de: líquidos pleurales, lavados broncoalveolares (Lav. br.alveolar), y esputos. Muy buena rentabilidad obtuvimos en los esputos posfibrobroncoscopias, de los 31 lavado broncoalveolares, cuyos cultivos fueron negativos, en 30 esputos remitidos poslavado obtuvimos crecimiento de micobacterias (96,77%).

Ninguna rentabilidad tuvieron las biopsias bronquiales y las Punciones transtraqueales (PTT). En la Tabla 16 se describen la diferentes procedencias de las muestras de origen respiratorio.

C.- HEMOCULTIVOS .

Los hemocultivos tuvieron una rentabilidad diagnós-

TABLA 16.

MUESTRAS RESPIRATORIAS .

PROCEDENCIA	Nº MUESTRAS n= 300	AURAMINAS + n= 93	Nº CULTIVOS + n= 99
Espustos	228.	68	70 (30,70%)
Lav.br.alveolar	49.	17	18 (36,73%)
Biopsia pulmón	7.	5	6 (85,71%)
PTT	4.	1	0
L. Pleural	9.	2	4 (44,44%)
Biopsia bronquial	2.	0	0
Biopsia pleural	1.		1 (100%)

tica, sobre las muestras totales, del 14,41% .

De los 45 pacientes con tuberculosis diseminada, se realizaron hemocultivos en 25 (55,55%), obtuvimos micobacteriemias en 18 (72%).

En 4 de estos pacientes, 22,22%, la primera muestra en que crecieron micobacterias fue la correspondiente a los hemocultivos, con intervalos con el crecimiento de otras muestras clínicas entre 30-45 días.

En 3 pacientes, 16,66%, el aislamiento de la micobacteria en el hemocultivo fue concomitante con el aislamiento de muestras procedentes de otros lugares.

En 9 pacientes, 50%, el aislamiento de micobacterias en el hemocultivo fue después, existiendo intervalos con el aislamiento en otras muestra clínicas de 30 días a 1 año.

En 2 pacientes, 11,11%, fue la única muestra en la que se obtuvo crecimiento, a pesar de recibir de estos mismos pacientes otras muestras clínicas (orina, esputos y LCR).

D.- MUESTRAS DE NECROPSIA.

En las muestras de necropsia realizada algunos de estos pacientes, en total 19, con aislamientos previos de micobacterias, seguimos obteniendo cultivos positivos con aislamientos de estos microorganismos en algunos de ellos.

Estas muestras con cultivos positivos correspondían a 14 pacientes, y las muestras recibidas fueron: de 6 pacientes biopsias hepáticas y esplénicas, de 2 pacientes biopsias cerebrales y de 6 pacientes biopsias pulmonares .

4.3 MICOBACTERIAS AISLADAS .

Del Total de los 229 cultivos positivos, en 215, la micobacteria aislada correspondió a *M. tuberculosis*, 93,8% y sólo en 14, la micobacteria aislada fue *M. avium-intracellulare*, 6,11%.

De los 69 pacientes diagnosticados de tuberculosis, en 68, (98,55%), la micobacteria aislada fue *M. tuberculosis*. En uno de estos pacientes, se aísla, junto con *M. tu-*

berculosis también *M. avium-intracellulare* (en 4 esputos)

En un sólo paciente de los estudiados, 1,44%, la micobacteria aislada correspondió exclusivamente a *M. avium-intracellulare*, aislándose en las muestras procedentes de: 3 esputos, 2 orinas, 1 LCR, 1 L. pleural y 3 hemocultivos.

Las otras micobacterias del grupo MOTT aisladas, y siguiendo los criterios de la American Thoracic Society, no cumplen criterios para adjudicarlas un valor patógeno. Su aislamiento tuvo lugar en muestras clínicas donde no tenían ninguna representatividad, como por ejemplo, en una sola muestra de esputo u orina y nunca se ha repetido su hallazgo. Estas micobacterias fueron: en 2 pacientes *M. gordonae*, y en 4 pacientes *M. fortuitum*.

4.3.1 SENSIBILIDAD A TUBERCULOSTATICOS EN LAS MICOBACTERIAS AISLADAS .

El estudio de sensibilidad a los fármacos tuberculostáticos se ha realizado en el Centro de Referencia de Micobacterias, Hospital Victoria Eugenia de Madrid y realizado por la Dra. March Arbós, estudiándose en 45 de los aislados, (65,21%), de los 69 pacientes diagnosticados de tuberculosis. Estos aislados de *M. tuberculosis* muestran ser sensibles a tuberculostáticos de primera línea.

Los tuberculostáticos ensayados fueron: Estreptomina, Rifampicina, Isoniazida, Etambutol, Kanamicina, Cicloserina, Etionamida, PAS y Ansamicina.

La sensibilidad de los aislados de *M. avium-intracellulare* mostró:

Resistencia a: Estreptomina, Rifampicina, Ansamicina, Kanamicina, Etambutol, Isoniazida, Etionamida y PAS. Sólo mostraron sensibilidad a Cicloserina.

En la sensibilidad de las muestras obtenidas de necropsias, realizadas algunos de estos pacientes y que mostraron tuberculosis activa en la autopsia, pacientes que tenían aislamientos previos de micobacterias, no se encontró variación con la sensibilidad del primer estudio.

4.4 RELACION CROMOLOGICA ENTRE EL DIAGNOSTICO DE LA TUBERCULOSIS Y OTRAS INFECCIONES OPORTUNISTAS DIAGNOSTICAS DEL SIDA .

En 3 pacientes, 4,35%, otras infecciones oportunistas, diagnósticas del SIDA, precedieron a la tuberculosis en un tiempo que oscila entre 45 días a 8 meses.

En 39, 56,52%, el diagnóstico de la tuberculosis fue anterior al de otras infecciones oportunistas, diagnósticas del SIDA, en un tiempo entre 45 días a 6 años.

En 27, 39,13%, el diagnóstico de la tuberculosis fue concomitante con otras infecciones oportunistas, diagnósticas del SIDA, en un tiempo entre 0-30 días.

4.5 FORMAS CLINICAS DE LA TUBERCULOSIS

4.5.1 PRESENTACION CLINICA LOCALIZADA .

La presentación clínica de la tuberculosis fue localizada en 24 pacientes, 34,78%, siendo la localización importante en pulmón, 54,16%, y adenopatías extratorácicas, 33,33%. Seguidas en menor frecuencia por las localizaciones en Aparato Urinario y SNC.

En la Tabla 17 se describe el número de pacientes con infección localizada por micobacterias y el número de cultivos positivos.

4.5.2 PRESENTACION CLINICA DISEMINADA .

Pero la presentación clínica de la tuberculosis más importante fue la diseminada, que se observó en 45 pacientes, 65,21%.

En la Tabla 18 se detalla: los aislamientos de micobacterias, en las muestras clínicas más frecuentes de las formas diseminadas, el número de pacientes y la localización en la que fue el primer aislamiento.

En un paciente, de los diagnosticados por infección

TABLA 17.

**AISLAMIENTOS DE MICOBACTERIAS EN LA PRESENTACION
 DE LA TUBERCULOSIS LOCALIZADA .**

LOCALIZACION	PACIENTES n= 24	CULTIVOS + n= 56
Pulmonar	13 (54,16%)	36
Ganglionar	8 (33,33%)	8
Urinaria	2 (8,33%)	10
SNC	1 (4,16%)	2

TABLA 18.

**AISLAMIENTOS DE MICOBACTERIAS EN LA PRESENTACION
 DE LA TUBERCULOSIS DISEMINADA.**

LOCALIZACION	PACIENTES n= 45	ORIGEN PACIENTES	CULTIVOS + n= 173
Pulmonar	43.	29	63
Adenopatías	23.	6	23
Orina	18.	2	30
Sangre	18.	6	33
Bazo	7.	0	7
Higado	7.	0	7
Cerebro	2.	0	2
LCR	2.	2	3
L. peritoneal	2.	0	2
Médula	3	0	3

diseminada, tuvimos sólo una muestra de una adenopatía cervical, en la que creció *M. tuberculosis* y en las extensiones realizadas en Anatomía Patológica de los granulomas de médula, bazo e hígado, de las muestras de necropsia, se visualizaron numerosos BAAR, aunque no se remitieron muestras para cultivo. Consideramos a este paciente con infección diseminada por micobacterias al igual que desde el punto de vista clínico y anatomopatológico.

4.5.3 RELACION DE LOS PACIENTES INFECTADOS POR HIV Y LA MANIFESTACION CLINICA DE LA TUBERCULOSIS EN LOS DIFERENTES AÑOS.

En el año 1983 en el único paciente diagnosticado de SIDA la tuberculosis fue diseminada.

En el año 1984 los tres pacientes diagnosticados de SIDA también lo fueron de tuberculosis, siendo la presentación localizada en 1 y diseminada en 2.

En el año 1985 de los 16 pacientes diagnosticados de SIDA, 10 también lo fueron de tuberculosis, siendo la presentación localizada en 1 y diseminada en 9.

En el año 1986 de los 42 pacientes diagnosticados de SIDA, 24 tuvieron tuberculosis, siendo localizada en 7 y diseminada en 17.

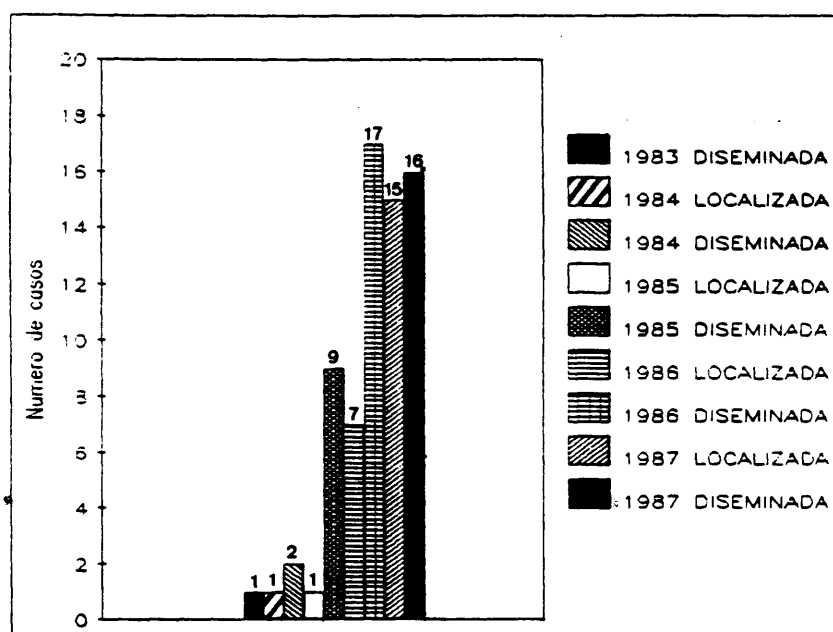
De los 38 pacientes diagnosticados de SIDA durante el primer semestre de 1987, 31 fueron diagnosticados de tuberculosis, siendo localizada en 15 y diseminada en 16.
Figura 16.

4.5.4 RELACION ENTRE LAS FORMAS CLINICAS DE LA TUBERCULOSIS Y LA PRESENTACION DE OTRAS INFECCIONES OPORTUNISTAS DIAGNOSTICAS DEL SIDA .

En los casos en que la tuberculosis fue la primera infección oportunista diagnóstica del SIDA hubo 15 formas localizadas y 24 diseminadas.

FIGURA 16.

RELACION DE LOS PACIENTES DIAGNOSTICADOS DE SIDA Y
LOCALIZACION CLINICA DE LA TUBERCULOSIS.



En los casos en que la tuberculosis fue concomitante con la presencia de otras infecciones oportunistas diagnósticas del SIDA hubo 9 formas localizadas y 18 diseminadas.

En los casos en que la tuberculosis fue diagnosticada después de otras infecciones oportunistas diagnósticas del SIDA hubo 3 formas diseminadas.

4.5.5 RELACION DE LA PRESENTACION CLINICA DE LA TUBERCULOSIS CON EL SEXO.

La incidencia de la tuberculosis en relación con el sexo fue:

Varones.....60.(69,76%).
Mujeres..... 9.(64,28%).

Las edades comprendidas en estos pacientes tenían un rango de 16-52 años, con una edad media de 36 y con una desviación standard de 5.47.

- De los 60 varones diagnosticados de tuberculosis, fue: localizada en 22, (36,66%), diseminada en 38,(63,33%)

- De las 9 mujeres diagnosticadas de tuberculosis fue: localizada en 2 (22,22%), diseminada en 7 (77,77%).

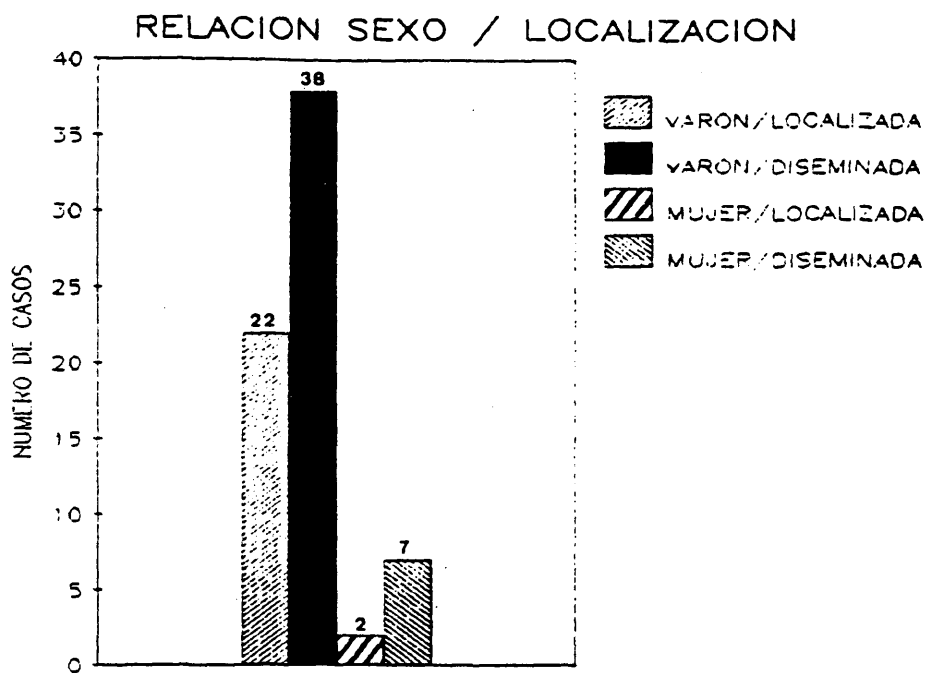
No se aprecia diferencia significativa entre las formas de presentación clínica de la tuberculosis y el sexo. Esta relación se describe en la Figura 17.

4.5.6 RELACION DE LA PRESENTACION CLINICA DE LA TUBERCULOSIS EN RELACION CON LOS FACTORES DE RIESGO Y EL SEXO.

La formas de presentación clínica de la tuberculosis en relación con los factores de riesgo y el sexo fue:

FIGURA 17.

RELACION DE PRESENTACION Y LOCALIZACION DE LA
TUBERCULOSIS EN RELACION CON EL SEXO .



- - -

De 10 pacientes homosexuales, 3 (30%), fueron diagnosticados de tuberculosis y la presentación clínica fue diseminada.

De 4 pacientes homosexuales + adictos IV, 3 (75%), fueron diagnosticados de tuberculosis y la presentación clínica fue diseminada en ambos.

De los 78 pacientes adictos IV, 58 (74,26%), fueron diagnosticados de tuberculosis, la presentación clínica fue: localizada en 23 (39,65%), y diseminada en 35 (60,3%)

De la paciente adicta + transfusión la presentación de la tuberculosis fue diseminada.

De 2 pacientes relacionadas con pareja sexual HIV+ sólo una fue diagnosticada de tuberculosis y la presentación clínica fue diseminada.

Los 3 pacientes sin factores de riesgo, la presentación clínica de la tuberculosis fue diseminada en 2, (66,66%) y localizada en 1 (33,33%). Tabla 19.

El porcentaje de la presentación de la tuberculosis en relación con los grupos de riesgo, el más representativo, fue el de los adictos IV. De los 24 pacientes con tuberculosis localizada 23, (95,83%), correspondían al grupo de adictos, y de los 45 pacientes con tuberculosis diseminada, 35, (77,77%), pertenecían a este mismo grupo.

La presentación de la tuberculosis en el grupo de adictos IV fue del 74,36% siendo estadísticamente superior al porcentaje de presentación de la tuberculosis en otros grupos de riesgo, que fue del 50% ($p < 0,005$).

En la Figura 18 se representa la relación de los adictos y las formas clínicas de la tuberculosis.

TABLA 19.

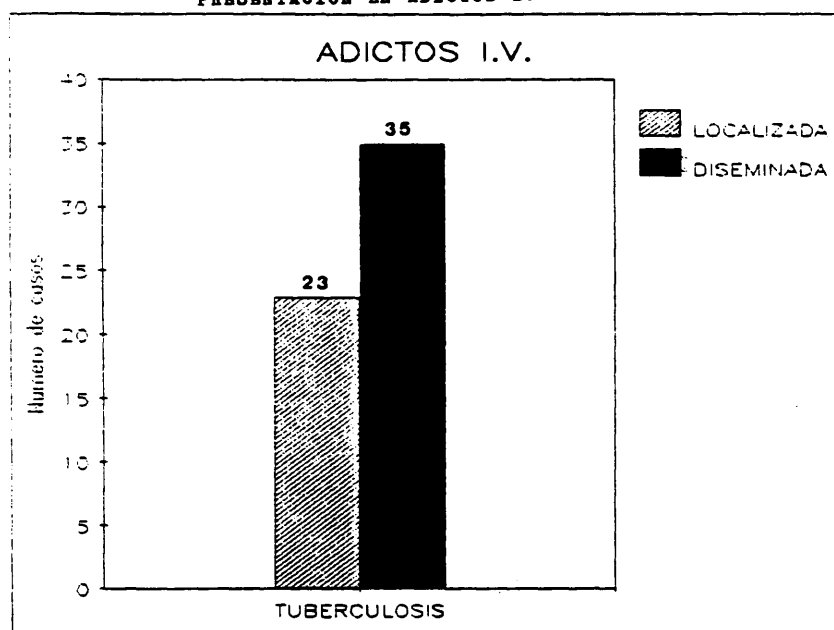
FORMAS DE PRESENTACION CLINICA DE LA TUBERCULOSIS

EN RELACION CON SEXO Y FACTORES DE RIESGO .

FACTOR DE RIESGO	VARONES	MUJERES
Homosexuales 3/10	Diseminada 3	
Adicto IV 58/78	Localizada 21 Diseminada 30	Localizada 2 Diseminada 5
Adicto + Transfusión 1		Diseminada 1
Homosexuales + Adictos 3/5	Diseminada 3	
Relacion con Pareja sexual 1/2		Diseminada 1
No factores 3	Diseminada 2 Localizada 1	

FIGURA 18.

RELACION DE LAS FORMAS CLINICAS DE LA TUBERCULOSIS Y SU
PRESENTACION EN ADICTOS IV .



4.5.7 RELACION DE LA PRESENTACION DE LA TUBERCULOSIS DISEMINADA ENTRE POBLACION NO INMUNODEPRIMIDA Y POBLACION CON SIDA .

En este estudio no pretendemos demostrar la incidencia de la tuberculosis en nuestro país, pero si podemos relacionar los datos en este trabajo obtenidos con los que, en el mismo periodo de tiempo que comprende este estudio, encontramos en nuestro Hospital en pacientes diagnosticados por nosotros de micobacterias, y no relacionados con infección por HIV.

En nuestro servicio hemos diagnosticado, en el mismo periodo de tiempo, a un total de 860 pacientes nuevos de tuberculosis. Si a estos pacientes se les elimina, los aquí estudiados, y los inmunocomprometidos por otras causas, por nosotros conocidas, obtenemos una cifra total de 749 diagnósticos nuevos de tuberculosis.

Es posible, que aún estas cifras, no sean el reflejo real de lo que ocurre en nuestro medio y hayamos considerado como "población no inmunodeprimida" algún paciente inmunodeprimido por nosotros desconocido. Pero la relación entre la infección diseminada por micobacterias entre esta población y la del SIDA, por mucho error que hubiesemos tenido, pensamos es altamente significativa.

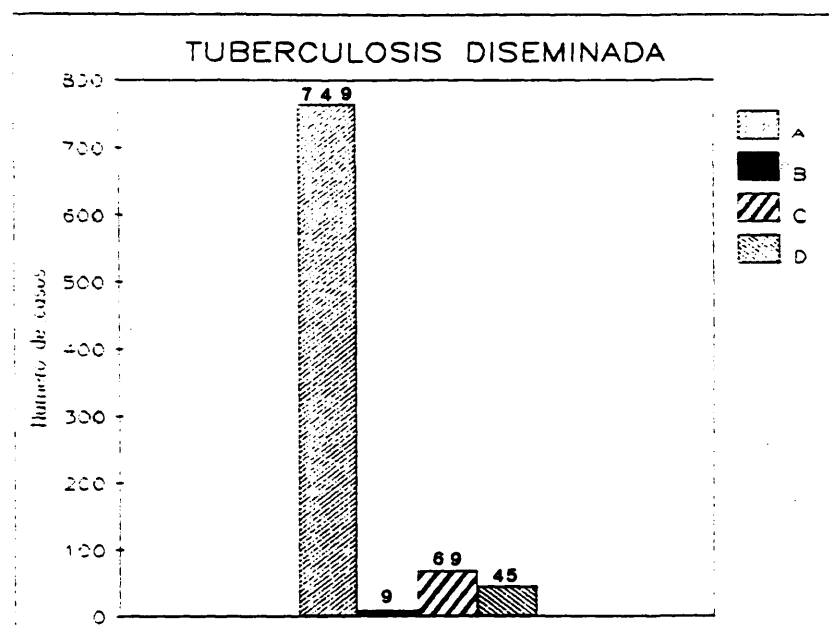
El porcentaje de formas diseminadas en esta población, por nosotros considerada no inmunodeprimida, es del 1,2%, 9 pacientes del total de los 749 pacientes nuevos diagnosticados de tuberculosis o micobacteriosis, tuvieron infección diseminada.

En la población con SIDA, en los que el diagnóstico de infección por micobacterias ocurre en 69 pacientes, la infección diseminada ocurrió en 45 pacientes, 65,21%, siendo estadísticamente significativa ($p < 0.0005$).

Esta relación se representa en la Figura 19.

FIGURA 19.

RELACION DE TUBERCULOSIS DISEMINADA ENTRE LA
POBLACION NORMAL Y CON SIDA .



A: Pacientes diagnosticados de tuberculosis en una población sin causa de inmunodeficiencia.

B: Casos de infección diseminada por micobacterias en la población A.

C: Pacientes diagnosticados de tuberculosis en la población con SIDA.

D: Casos de infección diseminada por micobacterias en la población C.

4.6 EVOLUCION DE PACIENTES CON TUBERCULOSIS.

Desde el diagnóstico de la tuberculosis en los 69 pacientes, viven 22 (31,88%), han fallecido 43 (62,32%) y se han perdido 4 en su seguimiento (5,80%).

La relación de la forma de la presentación clínica de la tuberculosis en estos pacientes y su supervivencia fue:

- De los 45 pacientes con infección diseminada por micobacterias la evolución ha sido:

Viven.....10 (22,22%).
Perdidos en su seguimiento..... 3 (6,66%).
Fallecidos.....32 (71,11%).

- De los 24 pacientes con infección localizada por micobacterias la evolución ha sido:

Viven12 (50%).
Perdido en su seguimiento.....1 (4,16%).
Fallecidos.....11 (45,83%).

La proporción de pacientes fallecidos con tuberculosis diseminada, (76,19%), es estadísticamente superior al fallecimiento en la presentación de la tuberculosis localizada, (47,83%), ($p < 0.05$).

4.6.1 PRESENTACION DE INFECCIONES OPORTUNISTAS EN RELACION CON LA EVOLUCION DE LOS PACIENTES CON TUBERCULOSIS .

- En los 45 pacientes con infección diseminada por micobacterias se presentaron las siguientes infecciones oportunistas:

- En los 10 pacientes vivos:
4 presentaron esofagitis por *C. albicans*.
2 presentaron esofagitis por *C. albicans* + encefalitis por *T. gondii*.
3 presentaron encefalitis por *T. gondii*.

1 presentó esofagitis por C. albicans + infección
diseminada por H. simplex.

- En los tres pacientes perdidos:

1 presentó encefalitis por T. gondii.

1 presentó esofagitis por C. albicans + encefali-
tis por T. gondii.

1 presentó esofagitis por C. albicans + Infección
diseminada por CMV.

- En los 32 pacientes fallecidos las infecciones
oportunistas fueron:

10 presentaron esofagitis por C. albicans.

6 presentaron esofagitis por C. albicans y P. cari-
nii.

1 presentó esofagitis por C. albicans + infección
pulmonar por P. carinii + infección diseminada por CMV.

5 presentaron esofagitis por C. albicans + encefali-
tis por T. gondii.

2 tuvieron linfoma de alto grado de malignidad.

1 presentó encefalitis por T. gondii.

4 presentaron infección diseminada por CMV.

1 presentó infección por Cryptosporidium.

2 presentaron esofagitis por C. albicans + encefali-
tis subaguda.

En los 24 pacientes con infección localizada por
micobacterias.

- En los 12 pacientes vivos presentaron las siguien-
tes infecciones oportunistas:

8 presentaron esofagitis por C. albicans.

1 presentó esofagitis por C. albicans + encefalitis
por T. gondii.

2 presentaron encefalitis por T. gondii.

1 presentó esofagitis por C. albicans + infección
pulmonar por P. carinii.

- El paciente perdido la infección oportunista fue

esofagitis por *C. albicans*.

- En los 11 pacientes fallecidos:
 - 1 presentó esofagitis por *C. albicans*.
 - 3 presentaron esofagitis por *C. albicans* + encefalitis por *T. gondii*.
 - 1 presentó linfoma de alto grado de malignidad.
 - 1 presentó infección diseminada por *H. simplex*.
 - 2 presentaron infección diseminada por CMV.
 - 1 presentó esofagitis por *C. albicans* + infección pulmonar por *P. carinii*.
 - 1 presentó esofagitis por *C. albicans* + Kaposi.
 - 1 presentó esofagitis por *C. albicans* + infección diseminada por CMV.

4.6.2 RELACION DE LA PRESENTACION DE LA TUBERCULOSIS CON: LA EVOLUCION DE LOS PACIENTES, LA PRESENTACION DE OTRAS INFECCIONES OPORTUNISTAS Y EL SEXO

En los 45 pacientes con infección diseminada por micobacterias:

- En los 10 pacientes vivos el diagnóstico de la tuberculosis fue:

En 1 mujer y en 5 varones, 60%, fue antes que otras infecciones oportunistas diagnósticas de SIDA.

En 2 varones, 20%, fue después del de otras infecciones oportunistas.

En 2 varones, 20%, fue concomitante con el de otras infecciones oportunistas.

- En los tres pacientes perdidos el diagnóstico de la tuberculosis fue:

En 1 varón, 33,33%, fue antes que otras infecciones oportunistas diagnósticas de SIDA.

En 2 varones, 66,66%, fue concomitante con el diag-

nóstico de otras infecciones oportunistas diagnósticas de SIDA.

- En los 32 pacientes fallecidos el diagnóstico de la tuberculosis fue:

En 14 varones y 3 mujeres, 53,13%, fue antes del de otras infecciones oportunistas diagnósticas del SIDA.

En 1 varón, 3,13%, fue después del de otras infecciones oportunistas diagnósticas de SIDA.

En 11 varones y 3 mujeres, 43,75%, fue concomitante con el de otras infecciones oportunistas de SIDA.

En los 24 pacientes con infección localizada por micobacterias:

- En los 12 pacientes vivos el diagnóstico de la tuberculosis fue:

En 8 varones y 1 mujer, 75%, fue diagnosticada antes de otras infecciones oportunistas diagnósticas del SIDA.

En 2 varones y 1 mujer, 25%, fue concomitante con el de otras infecciones oportunistas diagnósticas de SIDA.

- El paciente perdido el diagnóstico de la tuberculosis fue antes que el de otras infecciones oportunistas diagnósticas del SIDA.

- En los 11 pacientes fallecidos el diagnóstico de la tuberculosis fue:

En 5 varones, 45,45%, fue antes del de otras infecciones oportunistas diagnósticas del SIDA.

En 6 varones, 54,55%, fue concomitante con otras infecciones oportunistas diagnósticas de SIDA.

IV.5 VALORACION DEL MANTOUX COMO MARCADOR EPIDEMIOLOGICO.

De los 100 pacientes estudiados, se practicó la reacción de tuberculina en 90, para detectar infectados por *M. tuberculosis*, con PPD-RT23 2U y 5U considerando reacción positiva la que presentó una induración igual o superior a 10mm. Induraciones entre 5-9 mm se consideraron dudosas e induraciones entre 0-4 mm se consideraron negativas.

Las reacciones positivas se obtuvieron en 14 de 90 pacientes, 15,55%.

La reacción fue negativa en 14, (15,55%). Hubo anergia en 62, (68,88%).

Al tiempo de la prueba de tuberculina se hicieron otras pruebas cutáneas para valorar la hipersensibilidad retardada como son las de Candidina, Trichofitina y *Streptodornasa*, obteniéndose anergia en los 62 pacientes que la presentaron a la tuberculina.

De los 69 pacientes con tuberculosis el test de la tuberculina se realizó en 63, (91,30%), y se obtuvieron los resultados siguientes:

- 5.1 REACCION DE LA TUBERCULINA EN PACIENTES CON INFECCION LOCALIZADA POR MICOBACTERIAS.

En 24 pacientes con infección tuberculosa localizada, se realizó en 22 pacientes, (91,66%), y se obtuvieron los siguientes resultados: PPD (+) en 6, (27,27%), PPD (-) en 3, (13,63%), y anergia en 13, (59,09%).

- 5.2 REACCION DE LA TUBERCULINA EN PACIENTES CON INFECCION DISEMINADA POR MICOBACTERIAS.

En los 45 pacientes con infección diseminada, se realizó en 41, (91,11%), obteniéndose los siguientes resultados: PPD (+) en 4, (9,75%), PPD (-) en 6, (14,63%) y anergia en 31, (75,60%).

Esta prueba cutánea, empleada como marcador epidemiológico, para detectar casos infectados entre la población normal por M. tuberculosis, tiene, en estos pacientes, una sensibilidad del 15,87% y una especificidad del 87,10%. Tabla 20.

IV.6 VALORACION DE LOS HALLAZGOS HISTOLOGICOS.

Se ha realizado estudio histológico en 47 pacientes, (68,11%), de los 69 diagnosticados de tuberculosis y en los informes remitidos por Anatomía Patológica, se han observado granulomas en 27 representando el 57,44%, y ausencia de ellos en 20 representando el 42,55%. Tabla 21.

La relación de la presentación de la tuberculosis y el hallazgo histológico del granuloma fue:

6.1 GRANULOMAS EN LOS PACIENTES CON INFECCION LOCALIZADA POR MICOBACTERIAS.

De los 24 pacientes con infección localizada se realizó estudio histológico en 11 obteniéndose los siguientes resultados:

Se observó granuloma en 7 pacientes, (63,63%), y la evolución fue:

Viven 2.

Fallecidos 5.

No se observó granuloma en 4 pacientes, (36,36%), y la evolución fue:

Viven 2.

Fallecidos 2.

Todos estos pacientes, con y sin granulomas pertenecían al grupo de adictos IV.

No se realizó estudio histológico en 13 pacientes.

- 152 -

TABLA 20.

RELACION DE LA RESPUESTA A LA TUBERCULINA EN PACIENTES CON
SIDA Y LA FORMA CLINICA DE LA PRESENTACION DE LA TUBERCULOSIS

Nº de PACIENTES ESTUDIADOS	PPD (+)	PPPD (-)	ANERGIA
Casos totales 90/100	14	14	62
Tbc localizada 22/24	6	3	13
Tbc diseminada 41/45	4	6	31

TABLA 21.

HALLAZGOS DE GRANULOMAS EN RELACION CON LA
FORMA CLINICA DE LA PRESENTACION DE LA TUBERCULOSIS .

CASOS ESTUDIADOS	GRANULOMA	NO GRANULOMA
Diseminada 36/45	20	16
Localizada 11/24	7	4

**6.2. GRANULOMAS EN LOS PACIENTES CON INFECCION
DISEMINADA POR MICOBACTERIAS.**

De los 45 pacientes con infección diseminada se realizó estudio histológico en 36 pacientes, obteniéndose los siguientes resultados:

Se observó granuloma en 20 pacientes, (55,55%), y la evolución fue:

Viven 3.

Perdidos en su seguimiento 2.

Fallecidos 15.

Estos pacientes pertenecían a los siguientes grupos de riesgo:

- 15 eran adictos IV: viven 2, han fallecido 12 y se ha perdido 1 en su seguimiento.

- 1 era homosexual y ha fallecido.

- 3 eran homosexual + adicto: vive 1 y han fallecido 2.

- 1 pertenecía al grupo sin factores de riesgo.

No se observó granuloma en 16 pacientes, (44,44%), y la evolución fue:

Viven 3.

Perdidos en su seguimiento 1.

Fallecido 12.

Estos pacientes pertenecían a los siguientes grupos de riesgo:

- 2 eran homosexuales y han fallecido .

- 11 eran adictos IV: viven 3 y han fallecido 8.

- 1 era adicto + transfusión y ha fallecido.

- 1 era relacionada con pareja sexual y ha fallecido.

- 1 era del grupo sin factores y se ha perdido en su seguimiento.

No se realizó estudio histológico en 9 pacientes.

**6.3 RELACION DE LA PRESENCIA DE GRANULOMA EN LOS
DIFERENTES GRUPOS DE RIESGO PARA LA ADQUISICION DEL
SIDA .**

- En el grupo de los 58 pacientes adictos IV diagnosticados de tuberculosis, se ha realizado estudio Histológico en 37.

Se ha observado granulomas en 22 : viven 4, han fallecido 17 y se ha perdido 1 en su seguimiento.

Ausencia en 15: viven 5 y han fallecido 10.

- Del grupo de 3 pacientes homosexuales diagnosticados de tuberculosis, se ha realizado Histología en 3.

Se observó granuloma en 1 y ausencia en 2.

- Del grupo de 3 pacientes adictos + homosexuales diagnosticados de tuberculosis, se ha realizado estudio histológico en 3.

Se observó granuloma en los 3.

- El paciente adicto + transfusión no mostró granuloma.

- Del grupo de pacientes sin factores, los 3 diagnosticados de tuberculosis, se ha realizado en 2, hubo granuloma en 1 y ausencia en 1.

- En la paciente relacionada con pareja sexual no se visualizó granuloma.

Estadísticamente este hallazgo histológico, en esta población con SIDA, tiene una sensibilidad del 57,34% y una especificidad del 90%, con un valor predictivo del test positivo del 96,42%, un valor predictivo del test negativo del 31,03% y con una precisión diagnóstica del 63,15%.

**IV.7 COMPARACION DE LA SUPERVIVENCIA ENTRE
LOS PACIENTES CON SIDA CON Y SIN TUBERCULOSIS Y LOS
FACTORES DE RIESGO .**

En la Figura 20 se hace un estudio de supervivencia entre: pacientes con SIDA con y sin tuberculosis diseminada, ya que los pocos casos de incidencia de la forma localizada no tiene representatividad estadística.

De los pacientes con tuberculosis diseminada se han eliminado de este estudio 8 por ocurrir el fallecimiento concomitante con el diagnóstico de la tuberculosis.

El tiempo de supervivencia a la tuberculosis es de un rango desde 0 a 2.250 días, con una media de 192 días y con una desviación standard de 18.55.

El estudio de la supervivencia de los pacientes diagnosticados de SIDA y sin tuberculosis, al final del estudio ha sido:

Del total de pacientes diagnosticados de SIDA: viven 33, se han perdido 9 y han fallecido 58. La relación con el diagnóstico de tuberculosis ha sido:

De los 33 vivos: 22 pacientes, 66,66%, presentaron tuberculosis:

En 12 pacientes, 54,54%, la tuberculosis fue localizada, el 100% correspondió al grupo de adictos IV.

En 10 pacientes fue diseminada, 45,45%, correspondiendo el 90% al grupo de adictos y el 10% al grupo de adictos + transfusión.

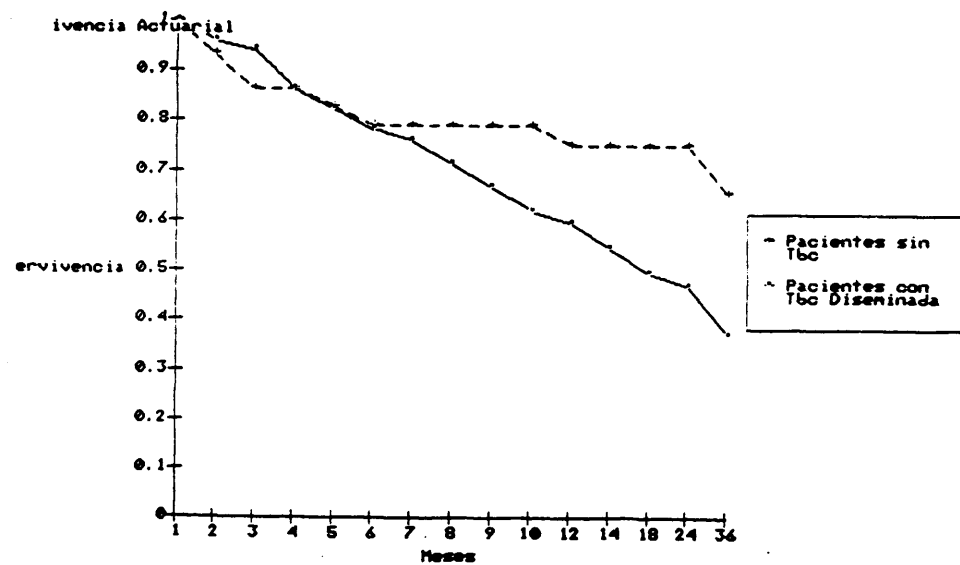
De los 58 fallecidos: 43 pacientes, 74,14%, presentaron tuberculosis:

En 11 pacientes, 25,58%, la tuberculosis fue localizada, correspondiendo el 90,91% al grupo de adictos IV y el 9% al grupo sin factores de riesgo.

En 32 pacientes fue diseminada, 74,42%, correspondiendo el 78% al grupo de adictos IV, y el 22% a los otros grupos estando dividido en: el 9,38% del grupo homosexuales, el 3,13% del grupo de adictos + transfusión,

FIGURA 20.

COMPARACION DE LA SUPERVIVENCIA ENTRE PACIENTES CON
SIDA CON Y SIN TUBERCULOSIS DISEMINADA .



el 3,13% del grupo de pareja con HIV + y el 6,25% del grupo de adictos + homosexuales.

De los 9 pacientes perdidos: 4 pacientes, 44,44%, fueron diagnosticados de tuberculosis:

En 3 pacientes, 75%, la tuberculosis fue diseminada, perteneciendo el 33,33% al grupo de adictos y el 66,66% al grupo sin factores.

En 1 paciente fue localizada, 25%, perteneciendo el 100% al grupo de adictos.

No se ha encontrado diferencia estadística significativa en la relación de la cifras de Linfocitos CD₄, o el índice CD₄/CD₈, con la mortalidad y la presentación o no de la tuberculosis.

En algunos pacientes con muerte súbita y tuberculosis diseminada se presentó un cuadro de Coagulación Intra-vascular Diseminada (CID), pero al no realizarse esta prueba de forma sistemática en los cuadros fulminantes en los demás pacientes no tiene representatividad estadística.

De los pacientes vivos han negativizado los cultivos de las muestras clínicas sólo 6, que pertenecían al grupo de infección tuberculosa localizada.

De los fallecidos, se ha realizado necropsia en 19, tenían tuberculosis activa en las muestras de necropsia 14 y no actividad en 5 pacientes, éstos últimos pertenecían al grupo de infección tuberculosa localizada.

En las tablas 22-28 se recogen las características de los pacientes y su relación con la infección o no por micobacterias, la respuesta a la intradermorreacción de la tuberculina y la presencia o no de granulomas.

Tabla 22. RELACION DE LOS PACIENTES ESTUDIADOS.

Nº	Año	Edad	Sexo	Riesgo	Localiza- ción Tbc	Diagnóstico Infección Micoba	CD ₄	CD ₄ / CD ₈	Evolu- ción	Granu- loma	PPD	T ₂ sgto
1	83	29	V	Adicto	Diseminada	Concomitante			Muerto	Sí	An	6
2	84	26	V	Adicto	Diseminada	Concomitante	51	0.11	Muerto	Sí	An	22
3	84	26	V	Ad-Homos	Diseminada	Antes 425 días	37	0.37	Muerto	Sí	An	17
4	85	24	V	Adicto	Localizada	Antes 127 días	24	0.10	Muerto	No	(-)	0
5	84	23	V	Adicto	Localizada	Concomitante	112	0.45	Muerto	Sí	(-)	365
6	85	25	V	Adicto	Diseminada	Antes 175 días	7	0.07	Muerto	Sí	(+)	0
7	85	29	V	Adicto	No Tbc				Muerto	No		20
8	85	21	V	Ninguno	Diseminada	Concomitante	81	0.21	Perdido	No	An	30
9	85	28	V	Adicto	No Tbc		19	0.06	Muerto	No	An	17
10	85	30	V	Ad-Homos	No Tbc		188	0.31	Muerto	No	(-)	90
11	85	22	V	Adicto	No Tbc				Perdido			30
12	85	28	V	Adicto	Diseminada	Concomitante	150	0.2	Perdido	Sí	(-)	496
13	85	33	V	Homosex	Diseminada	Antes 730 días	31	0.3	Muerto	Sí	An	3
14	85	27	V	Adicto	Diseminada	Concomitante	37	0.6	Muerto	Sí	An	74
15	85	24	V	Adicto	Diseminada	Concomitante	87	0.04	Muerto	No	An	365
16	86	22	V	Adicto	Diseminada	Antes 540 días	120	0.6	Muerto	Sí	(-)	90

TABLA 23. RELACION DE LOS PACIENTES ESTUDIADOS.

Nº	Año	Edad	Sexo	F. riesgo	Localiza- ción Tbc	Diagnóstico Infec Micoba	CD ₄	CD ₄ / CD ₈	Evolu- ción	Granu- loma	PPD	T2 agto
17	86	38	V	Adic-Hom	Diseminada	Antes 90días	26	0.11	Muerto	Si	An	460
18	86	21	V	Adicto	Diseminada	Concomitante	2	0.05	Muerto	No	An	240
19	85	30	V	Adic-Hom	Diseminada	Antes 300días	130	0.53	Vivo	Si	An	1030
20	86	24	V	Adicto	Diseminada	Antes 240días	209	0.4	Muerto	Si	An	23
21	85	26	M	Adic-Trf	Diseminada	Antes 120días	48	0.2	Muerto	No	An	450
22	85	30	V	Adicto	No Tbc		218	0.5	Perdido	No	(-)	60
23	86	23	V	Adicto	No Tbc		759	0.9	Perdido		(-)	26
24	86	25	V	Adicto	Diseminada	Concomitante			Muerto	Si	(-)	7
25	85	28	M	Adicto	Diseminada	Concomitante			Muerto	Si	(-)	10
26	86	26	V	Adicto	Diseminada	Concomitante	177	0.4	Vivo	Si	An	485
27	86	27	V	Adicto	Diseminada	Antes 300días	882	0.6	Muerto	Si	-	305
28	86	23	V	Adicto	Diseminada	Concomitante	77	0.7	Muerto	Si		270
29	86	31	V	Adicto	Diseminada	Concomitante	6	0.1	Muerto	Si	An	40
30	86	24	V	Homosex	Diseminada	Concomitante	537	0.32	Muerto	No	An	150
31	86	22	M	Adicto	Diseminada	Antes 270días	18	0.02	Muerto	No	An	120
32	86	27	V	Adicto	Localizada	Antes 60días	15	0.02	Muerto		An	165

TABLA 24. RELACION DE LOS PACIENTES ESTUDIADOS .

Nº	Año	Edad	Sexo	F. riesgo	Localiza- ción Tbc	Diagnóstico Infec Micoba	CD ₄	CD ₄ / CD ₈	Evolu- ción	Granu- loma	PPD	Tº sgto
33	86	32	V	Ninguno	Localizada	Concomitante	19	0.11	Muerto		An	226
34	86	25	V	Adicto	No Tbc		15	0.7	Muerto	No	An	60
35	86	23	M	Adicto	Diseminada	Concomitante	132	0.15	Muerto	No	An	418
36	86	30	V	Adicto	Localizada	Antes 300 días	27	0.11	Muerto	No	An	425
37	86	27	V	Adicto	No Tbc		162	0.35	Vivo		An	365
38	86	29	V	Adicto	No Tbc		39	0.31	Muerto		An	210
39	86	36	V	Homosex	No Tbc		847	1.14	Vivo	No	(+)	395
40	86	28	V	Ad-Hom	No Tbc		42	0.33	Muerto		An	90
41	86	36	V	Homosex	No Tbc		397	0.19	Vivo		(+)	485
42	86	76	V	Transfu	No Tbc		36	0.02	Muerto	Sí	An	425
43	85	28	V	Adicto	No Tbc				Muerto	No		6
44	86	27	V	Adicto	Diseminada	Antes 180 días	535	0.60	Muerto	No	An	210
45	86	23	V	Homosex	No Tbc		106	0.15	Muerto		An	90
46	86	22	M	Adicto	No Tbc				Muerto	No		3
47	86	24	M	Adicto	No Tbc				Perdido		(+)	15
48	86	25	M	Pareja +	No Tbc		328	0.76	Muerto		An	335

TABLA 25. RELACION DE LOS PACIENTES ESTUDIADOS.

Nº	Año	Edad	Sexo	P. riesgo	Localiza- ción Tbc	Diagnóstico Infec Micoba	CD ₄	CD ₄ / CD ₈	Evolu- ción	Granu- loma	PPD	T ₂ sgto
49	86	23	V	Adicto	No Tbc		50	0.3	Muerto		An	150
50	86	33	V	Adicto	No Tbc				Muerto		(-)	9
51	86	35	V	Adicto	No Tbc		229	0.64	Muerto		An	24
52	86	36	V	Ninguno	Diseminada	Antes 60 días	23	0.11	Perdido	Sí	An	60
53	86	28	M	Adicto	Localizada	Concomitante	415	2.3	Vivo		An	425
54	86	22	M	Adicto	No Tbc				Perdido		An	28
55	86	24	V	Adicto	No Tbc		15	0.04	Muerto		An	325
56	86	26	V	Adicto	Diseminada	Antes 120 días	85	0.62	Muerto	No	An	3
57	86	23	M	Ad+Parej	Diseminada	Antes 60 días	72	0.35	Muerto	No	(+)	120
58	86	29	V	Adicto	Localizada	Antes 180 días	23	0.02	Muerto	Sí	An	425
59	87	36	M	Adicto	Diseminada	Concomitante	207	0.43	Muerto	No	(-)	6
60	86	21	V	Adicto	Localizada	Antes 250 días	51	0.19	Vivo	No	An	250
61	86	27	V	Adicto	Localizada	Antes 45 días	957	1.23	Vivo		An	90
62	87	21	V	Adicto	Localizada	Concomitante			Muerto	Sí	(+)	265
63	87	22	V	Adicto	Localizada	Concomitante	23	0.11	Muerto	Sí	(+)	15
64	87	33	V	Adicto	Diseminada	Después 131 d	43	0.21	Vivo	No	An	425

TABLA 26. RELACION DE LOS PACIENTES ESTUDIADOS .

Nº	Año	Edad	Sexo	F. riesgo	Localiza- ción Tbc	Diagnóstico Infec Micoba	CD ₄	CD ₄ / CD ₈	Evolu- ción	Granu- loma	PPD	TG sgto
65	87	43	V	Homosex	Diseminada	Después 102d	498	0.54	Muerto	No	An	485
66	87	27	V	Adicto	Localizada	Antes 6 años			Perdido			10
67	87	31	M	Adicto	Diseminada	Antes 259 días	184	0.14	Vivo	No	An	555
68	86	36	V	Adicto	Diseminada	Después 230d			Vivo			510
69	87	24	M	Adicto	No Tbc		39	0.14	Vivo		An	22
70	86	30	V	Adicto	No Tbc		8	0.04	Vivo		An	375
71	87	26	V	Adicto	Localizada	Antes 210 días	395	0.85	Vivo		(+)	340
72	87	24	V	Adicto	Localizada	Antes 365 días	98	0.56	Vivo		An	270
73	87	16	V	Adicto	Diseminada	Antes 60 días	26	0.11	Muerto		(+)	3
74	87	33	V	Adicto	Diseminada	Antes 60 días			Muerto			56
75	87	27	V	Adicto	Localizada	Concomitante	60	0.7	Vivo	Si	(-)	300
76	87	34	V	Adicto	Localizada	Concomitante	15	0.7	Muerto		An	80
77	87	36	V	Adicto	Localizada	Concomitante	7	0.04	Muerto	Si	An	54
78	87	35	V	Homosex	No Tbc		206	0.26	Vivo	No	(-)	240
79	87	27	V	Adicto	Localizada	Antes 60 días	11	0.5	Vivo		An	240
80	87	37	V	Adicto	Diseminada	Concomitante	20	0.05	Vivo		An	240

TABLA 27. RELACION DE LOS PACIENTES ESTUDIADOS.

Nº	Año	Edad	Sexo	P. riesgo	Localiza- ción Tbc	Diagnóstico Infec Micoba	CD ₄	CD ₄ / CD ₈	Evolu- ción	Granu- loma	PPD	T ₂ sgto
81	87	23	V	Adicto	Diseminada	Concomitante	19	0.05	Muerto		An	50
82	87	52	V	Homosex	No Tbc		668	0.4	Vivo		An	120
83	87	37	V	Homosex	No Tbc		139	0.09	Vivo		An	180
84	87	24	V	Adicto	Localizada	Antes 90 días			Muerto		(+)	10
85	87	27	V	Adicto	Diseminada	Antes 390 días	122	0.4	Vivo	SI	(-)	605
86	87	25	V	Adicto	Diseminada	Antes 120 días	16	0.03	Vivo		An	150
87	87	18	V	Adicto	Diseminada	Antes 365 días	98	0.7	Muerto		An	90
88	87	27	V	Adicto	No Tbc		287	0.2	Vivo		(+)	180
89	87	30	V	Adicto	Diseminada	Antes 45 días	16	0.5	Vivo			240
90	87	30	V	Adicto	Localizada	Concomitante	12	0.29	Vivo	No	An	130
91	87	35	V	Homosex	No Tbc		34	0.13	Vivo		An	180
92	87	27	V	Adicto	Localizada	Antes 480 días	45	0.28	Vivo		An	105
93	87	24	V	Adicto	Diseminada	Concomitante	9	0.26	Muerto	No	An	106
94	87	32	V	Adicto	Diseminada	Antes 425 días	33	0.36	Muerto	SI	An	80
95	87	23	V	Adicto	Diseminada	Antes 73 días	47	0.25	Vivo	No	An	180
96	87	29	V	Adicto	Localizada	Antes 45 días	125	0.8	Vivo	SI	(+)	166

TABLA 28. RELACION DE LOS PACIENTES ESTUDIADOS.

Nº	AÑO	Edad	Sexo	F. riesgo	Localiza- ción Tbc	Diagnóstico Infec Micoba	CD ₄	CD ₄ / CD ₈	Evolu- ción	Granu- loma	PPD	Tº sgto
97	87	27	V	Adicto	Diseminada	Después 45 días			Muerto		An	60
98	87	29	V	Adicto	Localizada	Antes 46 días	492	0.5	Vivo		(+)	60
99	87	26	M	Adicto	Localizada	Antes 210 días			Vivo			240
100	87	26	V	Adicto	No Tbc				Vivo		An	112

Nota.- Las contracciones en las diferentes casillas corresponden:

La casilla "F riesgo", son los Factores de riesgo con las contracciones:
Homosexual (Homosex), adicto + homosexual (Ad+ Homo), adicto + transfusión (Adic+trf).

La casilla "Diagnóstico Infec Micoba" se refiere a la cronología entre el diagnóstico de la infección por micobacterias y el de otras infecciones oportunistas diagnósticas del síndrome.

La casilla "CD₄", corresponde a la cifra de Linfocitos CD₄.

La casilla "CD₄/CD₈", corresponde al índice de los Linfocitos CD₄ y CD₈.

La casilla "Tiempo de seguimiento", (Tº sgto), se refiere al tiempo que hemos seguido al paciente a partir de la fecha del diagnóstico del SIDA.

V DISCUSION.

V DISCUSION .

Al igual que lo que está ocurriendo en otros países, en nuestro medio la incidencia de pacientes con SIDA está aumentando y desde el año 1985 este hecho deja ser anecdótico para convertirse en un problema diario en cualquier hospital de nuestro país.

De hecho en el periodo de tiempo de cuatro años, que comprende este estudio, desde junio 1983 hasta julio de 1987, hemos recogido los 100 primeros casos diagnosticados de SIDA en nuestro Centro, en relación con la presencia de infecciones o tumores que definían al síndrome como así lo exigía el Center for Disease Control, CDC, en su definición del año 1986 (64).

El primer caso fue diagnosticado en el año 1983 y su incidencia ha ido en aumento como lo demuestra que durante el primer semestre del año 1987, se diagnostican 38 casos nuevos a diferencia del año anterior en el que en el mismo periodo de tiempo fueron sólo diagnosticados 15 casos.

EPIDEMIOLOGIA .

Nuestro porcentaje de varones, 86%, es estadísticamente superior al de mujeres, 14%, ($p < 0.005$), al igual que ocurre en diferentes comunicaciones de otros países (27,28).

En este estudio el factor de riesgo más importante para la adquisición del síndrome ha sido el grupo de adictos IV que ha representado el 78%.

Este alto porcentaje de adictos IV que presentamos en este trabajo, es en parte debida al grupo de población que nuestro hospital atiende, damos asistencia sanitaria a una elevada proporción de drogadictos, procedentes de la Unidad de Toxicomania de la Autonomía de Madrid, y a los reclusos procedentes de la cárcel de Carabanchel.

Con estos resultados, del porcentaje de adictos IV, coincidimos con lo publicado en nuestro país donde la dro-

gadicción es el factor de riesgo más importante, aunque se ha descrito algún caso en homosexuales como el de Martín Jimenez y cols (251-255).

Por el contrario, y diferente a los datos recogidos en este trabajo, en las publicaciones americanas el factor más importante es el de la homosexualidad, y es en esta población donde, en un comienzo, se describieron los primeros casos del síndrome, por lo que se relacionó con una determinada forma de vida (3-8,11,13-15,20,21,26,27,29,36, 67,69).

INFECCIONES OPORTUNISTAS DIAGNOSTICAS DE SIDA

De las infecciones oportunistas diagnósticas del síndrome, la más frecuente en nuestro medio, es la infección esofágica por C. albicans, que hemos tenido un porcentaje del 73%, al contrario de EE.UU donde la más frecuente es la infección pulmonar por P. carinii.

Hasta finales de los años 70 la neumonía por P. carinii, la esofagitis por Candida o la infección diseminada por Herpes simplex así como formas agresivas de determinadas neoplasias, linfoma de Burkitt o sarcoma de Kaposi, nunca habían sido diagnosticadas en personas con ausencia de enfermedades de base, y es a comienzo de la presente década cuando estos procesos aparecen en varones homosexuales en Nueva York y California, ciudades donde la incidencia de la homosexualidad y la drogadicción IV son altas (10,11,14).

Ya desde las primeras publicaciones de EE.UU, antes de tener conocimiento del agente causal del síndrome, se describieron neumonías por P. carinii que cursaban como brotes epidémicos, de adquisición en la comunidad y en los que ya se detectaba una alteración en la inmunidad celular (3,4,7,12,18,20,).

Del estudio retrospectivo que realizó el Center for Disease Control, (CDC), se desprende que las primeras con-

sultas realizadas a ese centro para el tratamiento con Pentamidina en neumonías por *P. carinii*, tuvieron lugar en los años 1.978-1.979, y con probabilidad serían los primeros casos, aún no diagnosticados, del síndrome por falta de conocimiento del mismo (3,4)

Pero desde las primeras comunicaciones, y hasta la actualidad, en EE.UU la infección oportunista más frecuente, en los pacientes con SIDA, es la infección pulmonar por *P. carinii* (21,26,27,62,95-97,102,103,107,112).

INFECCION POR MICOBACTERIAS EN PACIENTES CON SIDA .

En este trabajo que presentamos nos hemos interesado de forma especial en la infección por micobacterias en estos pacientes con SIDA.

En esta tesis doctoral, el porcentaje de infectados por micobacterias, en los 100 pacientes aquí estudiados, es del 69% y, considerada como infección oportunista, es la única que se presenta estadísticamente significativa entre varones y mujeres.

Este alto porcentaje de tuberculosis en estos pacientes, que presentamos en este estudio, es debido a que en nuestro hospital se mantiene un alto índice de sospecha de esta enfermedad en pacientes infectados por HIV haciendo cultivos para aislamiento de micobacterias a toda muestra clínica que proceda de este grupo de población.

Al ser las micobacterias microorganismos en cuya defensa interviene la inmunidad celular, parece lógico que afecte de forma importante al paciente inmunodeprimido, y en este estudio, al paciente infectado por el *Virus de la Inmunodeficiencia Humana*, (HIV) (36,65).

De hecho en situaciones en que las defensas del huésped se encuentran muy alteradas, y en la infección por HIV así ocurre, *M. tuberculosis* es como si, ante estos estados de inmunodepresión, se estuviese comportando como un

oportunista.

Ya antes de la aparición del SIDA la infección por *M. tuberculosis* se empezaba a reflejar, a finales de la década de los años 70, en un grupo de población que hasta ese momento no se había descrito, en los drogadictos. Así Reichman y cols en 1978, observaron la infección por *M. tuberculosis* en una población de drogadependencia, en un ambiente social muy bajo donde el riesgo a infectarse por *M. tuberculosis* es alto (256).

Ayvazian en 1.979 comunicó casos de tuberculosis en ambientes sociales promiscuos donde la drogadicción y alcoholismo es alto y observó que la infección por *M. tuberculosis* aparece de forma similar tanto entre individuos drogadependientes como en la población normal, pero reconoce que la presentación de enfermedad es más alta en ambientes de hacinamiento y promiscuidad (257)

Prácticamente estamos en la época que pudieramos llamar del "Pre SIDA", debido aún a la falta de conocimiento del síndrome, pero se comienza a detectar la incidencia de la tuberculosis en una población con la que luego estaría altamente relacionado.

Sin embargo, en EE.UU, país donde comienzan las primeras publicaciones sobre pacientes con el síndrome e infectados por micobacterias, eran las micobacterias no tuberculosas, *MOTT*, las que afectaban a estos pacientes, y de forma más importante *M. avium-intracellulare*. (36,69, 215-217,224-227).

MAI es una micobacteria que pertenece a las *MOTT* y que antes de 1980 era considerada agente de patología en el hombre sólo de forma extraordinaria. No obstante, por razones no bien aclaradas, *MAI* se ha convertido en una infección frecuente en pacientes con SIDA (36,179,198, 215-220,224,225).

La importancia de *M. tuberculosis* como patógeno en pacientes con SIDA, en EE.UU, no fue reconocido en su debida importancia durante los primeros años de la aparición del síndrome, y por consiguiente, no fue incluida como in-

fección oportunista diagnóstica de SIDA; si era considerada, en la clasificación que el CDC realizó en el año 1986, como enfermedad relacionada con el síndrome en el grupo IV, subgrupo C₂ (64).

Pitchenik, en los años 1983 y 1984, señaló que la prevalencia de tuberculosis en pacientes con SIDA estaba relacionada con el grupo de haitianos, donde su incidencia era del 650/100.000; mientras que en EE.UU la incidencia global de la tuberculosis era del 11/100.000.

La incidencia de la tuberculosis entre la población de haitianos con el síndrome continuaba aumentando, llegando afectar al 60% de los diagnosticados de SIDA, frente al 2,7% de los afectados por el síndrome del grupo no haitiano.

Este mismo autor ya sugirió, en esos mismos años, que fuese considerada como infección oportunista diagnóstica del síndrome, además por ser en muchas ocasiones la primera infección que se presentaba (219,246).

En esos mismos años y en diferentes publicaciones de EE.UU, país donde la infección por *M. tuberculosis*, se continuaba describiendo con más frecuencia entre haitianos, y en poblaciones económicamente débiles, donde la incidencia basal de la enfermedad tuberculosa en la población era elevada, proponían en considerar como infección oportunista a *M. tuberculosis*. (219,258-263).

Incluso se le empezaba atribuir, en algunas ciudades estadounidenses donde el número de pacientes con SIDA era más elevado, un papel claro en la atenuación o inversión de la curva decreciente de incidencia de la tuberculosis. (246,263-265).

En nuestro país comienzan las primeras publicaciones de infección por micobacterias en pacientes con SIDA en el año 1985, eran trabajos con escaso número de pacientes, en las que se insistía en considerar a este microorganismo como infección diagnóstica del síndrome, y así:

Aguado García y cols publicaron un trabajo en que se empezaba a insistir en considerar la infección por *M. tu-*

berculosis como oportunista en los pacientes con SIDA. Al igual que los trabajos publicados por De La Loma y cols, Palencia Horrejon y cols (247,248,252).

Marquez Solero y cols insistían en considerar a esta micobacteria como infección oportunista en pacientes con el síndrome en nuestro medio, y señalaron que la presentación clínica más frecuente es la extrapulmonar (253).

Nosotros presentamos, en la " II Conferencia Internacional sobre el SIDA", celebrado en Paris en 1986, un estudio en 35 pacientes con SIDA. La incidencia de la tuberculosis ocurrió en 74% de los pacientes. La única micobacteria que aislamos en ese estudio fue M. tuberculosis y en este trabajo también insistíamos en que se considerase esta micobacteria como infección predictiva de SIDA.(249).

Pero en los últimos años también en EE.UU los pacientes con SIDA, no Haitianos, mostraron un aumento de infección por M. tuberculosis. Handwerger relacionó la tuberculosis en pacientes con SIDA en un Hospital de Nueva York y Louie la presentaba como infección oportunista y predictiva de SIDA (266,267).

Guarner y cols observaron que M. tuberculosis era frecuente en pacientes con el síndrome, independiente de raza, y que debería ser diagnóstica de SIDA (260).

Sunderam y cols en 1.986 indicaban que M. tuberculosis ,microorganismo que hasta ese momento no era reconocido como diagnóstico del síndrome, aunque sí se le reconocía su relación con el mismo, debería ser considerado como infección marcadora de SIDA (261).

Así Pinching, y el propio CDC, en 1987, informaron del incremento de la tuberculosis que en EE.UU se está observando desde el año 1983, siendo más alta su presentación en pacientes con SIDA que en la población normal. Incluso aconsejaban ante todo reactor a la tuberculina, entre pacientes con el síndrome, hacer profilaxis con isoniazida (265,268)

Al mismo tiempo el CDC observó que en Nueva York y Connecticut, ciudades donde la incidencia de la tuberculo-

sis en pacientes con SIDA era 100 veces más alta que en la población general, estaba aumentando su morbilidad, coincidiendo cronológicamente, este hecho, desde la aparición del síndrome (64,268).

También el CDC comunicó que la aparición de la tuberculosis entre los adictos IV era más frecuente que entre los homosexuales, siendo a su vez más importantes la aparición de formas diseminadas y sugiriendo que la drogadicción favorezca su diseminación (263,264,268).

Quizás todos estos acontecimientos obligasen al CDC, en la última revisión de la definición del síndrome que hizo en Agosto de 1987, a considerarla ya como infección oportunista diagnóstica de SIDA, incluyéndola en el apartado II-A como enfermedad extrapulmonar, concomitante o no con la pulmonar, y como diagnóstico presuntivo de SIDA en el apéndice III, con exámen microscópico de muestras de tejidos o fluidos orgánicos, considerados estériles, con presencia de BAAR. (66 bis).

RELACION ENTRE EL DIAGNOSTICO DE LA INFECCION POR MICOBACTERIAS Y OTRAS INFECCIONES OPORTUNISTAS DE SIDA.

En esta tesis doctoral, no se ha considerado la infección extrapulmonar por M. tuberculosis, ni incluso la diseminada, como infección oportunista diagnóstica del síndrome, ya que cuando se comenzó este estudio, e incluso al finalizarlo, no era aún admitida por el CDC como infección diagnóstica del SIDA.

Pero si la podremos relacionar con la presentación de otras infecciones oportunistas.

En este estudio la tuberculosis precede a la presentación de otras infecciones oportunistas que definen el síndrome, o se diagnostica al mismo tiempo, en una proporción del 95,65%, cifra que puede hacer considerar la infección por M. tuberculosis como infección predictiva de SIDA.

El motivo por el cual, la infección por M. tuber-

culosis, precede a otras infecciones oportunistas, en un porcentaje tan alto, podría deberse a que sea el germen más virulento que cause enfermedad en los estadios primarios de la inmunodeficiencia mientras que las infecciones debidas a MOTT ocurren más tarde (66 bis, 264, 267, 269, 270).

FORMAS CLINICAS DE LA PRESENTACION DE LA TUBERCULOSIS .

La presentación de la tuberculosis en este grupo de pacientes, aquí estudiados, es de forma atípica y la localización única en este trabajo representa sólo el 34,78%. La principal localización fue la pulmonar con un 54,16% seguida de las adenopatías extratorácicas en un 33,33%.

Como describen Pitchenik y el CDC, entre otros autores, en la radiología de tórax de estos pacientes destacan los patrones diseminados (alveolares, intersticiales o mixtos) asociados a abundantes adenopatías hilio-mediastínicas; siendo escasa la cavitación y los derrames pleurales (269, 271).

En nuestro Hospital es frecuente el observar este patrón mixto de predominio reticular, difuso y bilateral, más evidente en ambas regiones perihiliares, sin adenopatías ni compromiso pleural, típico del curso agudo en pacientes infectados por HIV. Figura 21.

De acuerdo con estos criterios, universalmente admitidos, la primera posibilidad diagnóstica podría ser una infección por gérmenes oportunista, y *P. carinii* sería el primer supuesto agente causal. Lo que demostraría una vez más el que no puede hacerse diagnóstico etiológico sólo por el patrón radiológico (272).

En este estudio, la afectación linfática extratorácica, con localización única, fue del 33,33% superiores a las descritas por otros autores lo que demuestra que la biopsia ganglionar es de gran importancia en el diagnóstico de micobacterias, como así proponen, entre otros autores, Duncansen y cols, Sunderan y cols, Pinching, y Louie y cols (258, 261, 265, 267).

- 155 -

FIGURA 21.



Radiografía de tórax típica de un curso agudo de un paciente infectado por HIV. Se observa un patrón mixto de predominio reticular difuso y bilateral, más evidente en ambas regiones perihiliares, sin adenopatías ni compromiso pleural.

La presentación de la tuberculosis diseminada en este trabajo es del 65,21% lo que demuestra una vez más que esta manifestación, en estos pacientes, es la más frecuente, coincidiendo con diferentes autores de nuestro país y de EE.UU. (219,247-249,254,255,260,261,263,267,270).

Ya Pitchenik y cols advirtieron que la tuberculosis en el grupo de haitianos con el síndrome en un 70% era extrapulmonar y diseminada (219,246).

Al ser la forma de presentación diseminada el Hemocultivo es la muestra de elección para su detección, a su vez las bacilemias, de gran importancia en este trabajo, fueron descritas ya por Clough en 1917, así como por Stead en 1971 en pacientes con tuberculosis miliar, y aseguran que pueden estar representadas aproximadamente en el 2/3 de los pacientes con tuberculosis primarias. Es lo que ellos denominaban la "Bacilemia del silencio".(273,274).

La práctica del Hemocultivo para aislamiento de micobacterias ha sido una técnica poco utilizada. Pero el auge en su realización surge en los años 80 que impulsa a esta metodología, algo olvidada, dos acontecimientos importantes: por un lado el conocimiento que sobre el SIDA se va adquiriendo, al encontrarse con pacientes que presentan importantes bacilemias, incluso con recuentos que oscilan desde 350 a 2.500 UFC/ml.

Así: Pasculle y cols, y Berlin y cols a partir de hemocultivos bifásicos ordinarios, y procesando sólo el frasco de aerobios, obtiene aislamientos de micobacterias en estos pacientes (167,275).

Otro acontecimiento de gran importancia, ha sido la evaluación de nuevas técnicas que acortan el tiempo de crecimiento de estos microorganismos e incluso permiten estudios de sensibilidad. En la actualidad se emplean nuevos procedimientos, tales como lisis-centrifugación o procedimientos radiométricos, como el BACTEC, con medios de cultivo especiales para el crecimiento de estos microorganismos cuyo aislamiento, e incluso, estudios de sensibili-

dad, se pueden obtener entre 7-14 días; y así comienzan aparecer grandes revisiones de micobacteriemias por el grupo MOTT, en pacientes con SIDA y demostrándose, al mismo tiempo, la efectividad de estos métodos (215,217,227-231,276-278).

Recientemente, a pesar de la gran difusión de micobacteriemias en pacientes de SIDA con aislamientos de micobacterias del grupo MOTT, comienzan a publicarse revisiones de bacteriemias causadas por *M. tuberculosis*, así como su relación con la aparición del síndrome, pero son publicaciones en las que se recogen un número reducido de casos (279,280).

En este trabajo que presentamos la rentabilidad del hemocultivo fue del 64,71% y, en algunos de los pacientes estudiados, ha sido la primera muestra en la que se obtuvo el aislamiento de micobacterias.

En los pacientes en los que realizamos hemocultivos en el 22,22% fue la primera muestra en que creció *M. tuberculosis*. En el 11,11% fue la única muestra en la que obtuvimos crecimiento y en el 16,66% fue concomitante con el crecimiento de otras muestras clínicas.

Al no disponer en nuestro Laboratorio de BACTEC radiométrico para micobacterias, ni emplear procedimientos de lisis-centrifugación, hemos seguido, en diferentes momentos y a partir de hemocultivos bifásicos ordinarios, las pautas descritas por Pasculle, Berlin y Barnes para aislamiento de micobacterias con algunas modificaciones realizadas por nosotros (167,275,279).

En la comunicación que presentamos en la "Primera Reunión del Grupo Español de Micobacteriología", (GEM), sobre "Micobacteriemia" en pacientes con anti-HIV positivo y anti HIV-negativo, demostramos que el aislamiento de *M. tuberculosis* de los hemocultivos ocurre no sólo en la población de infectados por HIV, sino también en la no infectada, aunque es más manifiesta en la población HIV + (281).

INFECCION POR MICOBACTERIAS EN DROGADICTOS IV .

Ya hemos comentado que el factor de riesgo más importante en la adquisición del SIDA, en nuestro país, es el de la drogadicción, y a su vez, es la población que más incidencia presenta de infecciones por micobacterias.

Parte de la población atendida por nuestro Hospital, reclusos de la cárcel de Carabanchel, presenta alto riesgo de infectarse por M. tuberculosis por las condiciones que les rodean de promiscuidad y drogadicción.

Así como en nuestro Centro mantenemos alta sospecha de infección por micobacterias a todo paciente infectado por HIV, del mismo modo actuamos con los pacientes drogadictos a los que a su vez se les realiza Ac frente HIV.

En este trabajo, la tuberculosis en el grupo de adictos IV se manifestó en el 74,36%, siendo estadísticamente superior a la presentación de la misma en otros grupos de riesgo. ($p < 0.005$).

El riesgo de pasar de infección por micobacterias a enfermedad, en los adictos IV, está favorecido por dos factores, uno es la drogadicción, ya que la heroína tiene un marcado papel en la inmunosupresión de la subpoblación de Linfocitos T, y el otro es la propia infección por HIV (131,263,264,282-285).

En la comunicación que presentamos en París, sobre 35 pacientes con SIDA y en donde la tuberculosis ocurrió en 74% de los pacientes, el porcentaje de drogadictos IV con tuberculosis correspondió al 62,85%, siendo la presentación diseminada en el 76% de los adictos afectados por esta enfermedad (249)

Con estos datos coincidimos con las comunicaciones posteriores, en nuestro país, de Nieto García y cols, Pérez Vidal y cols que relacionan la tuberculosis en drogadictos y SIDA, y con predominio de presentación diseminada (254,255).

El propio CDC, en el año 1987, observó que en Connecticut y Nueva York, es más frecuente la aparición de la

tuberculosis entre los adictos IV que entre los homosexuales, siendo a su vez más frecuente, entre esa población, la aparición de formas diseminadas (263,264,268).

En este trabajo del 74,36% de la población de adictos IV, que se infectaron por micobacterias, el 60,34% de los infectados, presentaron infección diseminada. Sobre el total de las infecciones diseminadas obtenidas el 77,77% correspondió al grupo de adictos.

En este estudio la localización de la tuberculosis en el SNC, en las formas diseminadas fue del 4,44%, y todos los pacientes eran adictos IV.

Bishburg y cols señalaron que los adictos IV presentaban con más frecuencia lesiones en SNC por M. tuberculosis que otros grupos de riesgo. Revisaron 420 pacientes con SIDA, en 10 observaron la presencia de masas cerebrales y al hacer diagnóstico diferencial con otras infecciones oportunistas, y de forma inmediata con infección diseminada por CMV, obtuvieron crecimiento de M. tuberculosis .

Los 10 pacientes, estudiados por Bishburg y cols, eran adictos IV, 3 diagnosticados del síndrome y con infección tuberculosa extrapulmonar y 7 eran considerados como Pre-Sida.

Aconsejaron que ante todo adicto IV con lesiones en el SNC se debe pensar en el diagnóstico tuberculoso, por ser muy frecuente en este grupo de riesgo y por la buena respuesta que presentan al tratamiento, el cual debe ser instaurado ante toda sospecha, incluso, antes de obtener crecimiento de micobacterias en los cultivos (286).

MICOBACTERIAS AISLADAS .

En este trabajo que presentamos la micobacteria aislada, casi de forma constante en estos pacientes, fue M. tuberculosis representando el 98,5% de los pacientes diagnosticados de infección por micobacterias; sólo hubo

un paciente infectado por *M. avium-intracellulare*, representando el 1,44%.

Con estos datos coincidimos con lo publicado en nuestro país, que aunque de forma esporádica se ha publicado algún caso de micobacterias no tuberculosas en pacientes con SIDA, como el de Lopez Jimenez y cols en el que la micobacteria aislada fue *M. kansasii*, todo lo publicado está en relación con *M. tuberculosis* (241,247, 248,252,253).

Estos resultados son muy diferentes con los publicados en EE.UU, país en el que los aislamientos más importantes corresponden a micobacterias del grupo MOTT y en los que de forma más frecuente se aísla *M. avium-intracellulare* (36,69,215-217,224-227).

También están descritas otras micobacterias pertenecientes al grupo MOTT, en diversas publicaciones americanas, involucradas en pacientes con SIDA, como son: el de Engs y cols, Tecson y cols, con aislamiento de *M. xenopi*, Sherer y cols con aislamiento de *M. kansasii*, el de Chan y cols en el que aíslan *M. gordonae* y el de Males y cols con aislamiento de *M. haemophilum*. (238,239,242,243,244).

Los estudios de Sensibilidad realizados a las micobacterias aisladas mostraron: *M. tuberculosis* ser sensibles a fármacos antituberculosos de primera línea y *M. avium-intracellulare* fue resistente, al igual que lo descrito en diferentes publicaciones (197,231,232-234).

VALORACION DE LOS HALLAZGOS HISTOLOGICOS .

M. tuberculosis también ha sido aislado, en este trabajo, en las formas diseminadas, de las biopsias: esplénicas, hepáticas, ganglionares y medulares coincidiendo con lo publicado por otros autores y en nuestras propias observaciones anteriores (249,261,266,267,270)

Tuvimos buena rentabilidad diagnóstica en las biopsias hepáticas y esplénicas y ganglionares, algo más baja fue la obtenida en las biopsias medulares.

Si las muestras de biopsias no se hubiesen enviado para cultivo de micobacterias y sólo se hubiesen realizado el estudio histológico, se habría dejado de diagnosticar la tuberculosis en un 42,55%, coincidiendo nuestros datos con otros autores, debido al defecto de no formar granulomas, como es propio de estos pacientes, por la inmunosupresión tan grave que presentan.

En este trabajo la ausencia de granulomas es más marcada en pacientes con infección diseminada, 44,44%, que en los que presentan infección localizada, 36,36%, con una ausencia total del 42,55%. En la población de adictos esta ausencia representó el 59,47%.

En las biopsias remitidas del paciente con infección diseminada por *M. avium-intracellulare* no se observaron granulomas pero sí la tinción fue muy abundante de BAAR, como es propio de esta infección por micobacterias del grupo MOTT (287-290).

Todas las publicaciones revisadas recomiendan realizar cultivos para micobacterias de todas las muestras de biopsias realizadas a estos pacientes, ya que debido a la inmunosupresión que presentan no se observa la lesión histológica propia de esta infección por micobacterias.

Nuestros resultados concuerdan con los obtenidos por los diferentes autores de nuestro país y con los descritos por otros países entre otros con los de:

Ducansen y cols, aunque ellos sólo en un 33,34% no confirmaron el hallazgo de granulomas, y observaron que era más frecuente esta ausencia de granulomas en los adictos IV que en los otros factores de riesgo. Por lo que recomiendan investigar siempre micobacterias por tinción y cultivo en todos los pacientes con el síndrome, incluso, sin lesiones histológicas propias de la tuberculosis (223, 258, 260, 261).

Las publicaciones de diferentes autores, entre ellas las de : Guarner y cols, Sunderan y cols, Freeman y cols, Cohen y cols, Sohn y cols y Khan y cols, describen también la ausencia de formación de granulomas en estos pacientes, y en la publicación del último autor, la ausencia de gra-

nulomas se manifiesta en el 52% de los pacientes estudiados e infectados por *M. avium-intracellulare*, advirtiéndose que en estos pacientes se puede comportar, de igual forma, *M. tuberculosis* (260,261,287-290).

INTRADERMORREACCION DE MANTOUX .

En relación con la alteración de la inmunidad celular, también está la falta de respuesta a las pruebas de tuberculina, prueba de gran valor para detectar infectados por micobacterias entre la población normal, teniendo en consideración la anergia importante que se presenta en las tuberculosis miliares incluso en la población general (291,292).

En este trabajo, se realizó la prueba de Mantoux en 63 pacientes de los 69 diagnosticados de infección por micobacterias; tuvimos una positividad en 10 pacientes, tres de los cuales negativizaron en la presentación del síndrome, un test negativo en 9 pacientes y una anergia en 44 pacientes.

Pero en estas pacientes, como ha sido descrito por otros autores, y en nuestras anteriores observaciones, hay altos porcentajes de falsos negativos, al igual que nosotros, presentan pacientes con PPD (+) que suelen negativizar con la presentación del síndrome; y en porcentajes muy altos presentan anergia (219,249,282,283,293,294).

La respuesta, que presentan los pacientes con SIDA ante la reacción de Mantoux, hace que esta prueba no pueda considerarse como un buen marcador epidemiológico, para detectar infectados por micobacterias en esta población con SIDA, ya que la inmunosupresión también inhibe la respuesta de esta prueba cutánea al estar relacionada con la inmunidad celular.

Para valorar esta anergia siempre se recomienda contrastar la prueba de la tuberculina con otros test cutáneos, y en estos casos se realizaron pruebas de intrader-

morreacción con estreptodornasa y candidina mostrando también anergia (291).

Es cierto que no se ha realizado el estudio de la coagulación intravascular, de forma rutinaria, en toda esta serie que presentamos, pero en los casos en que se realizó, se presentó coincidiendo con formas fulminantes.

La causa no es bien conocida ya que las micobacterias no producen endotoxinas ni exotoxinas que justifiquen su aparición, como explicaron Maviglit y cols, y Manzella y cols; ambos autores coinciden en que su aparición conduce a una muerte súbita, cuya forma de presentación y evolución es igual a las presentadas en este estudio (295, 296).

La mortalidad global en este trabajo fue del 63,74%, y en los diagnosticados de tuberculosis fue del 74,14%.

La mortalidad más alta correspondió al grupo de los adictos IV, con porcentajes del 81,40.

Los estudios de supervivencia realizados en EE.UU muestran que la mortalidad está asociada a dos factores de riesgo principales: la drogadicción IV y homosexualidad, pero la tasa más alta de la mortalidad está unida a la drogadicción IV al igual que lo obtenido en este trabajo (297).

En nuestro país, el posible aumento de la morbilidad de la tuberculosis, puede estar relacionado con la aparición del SIDA y con la incidencia tan alta de la tuberculosis en estos pacientes, como lo demuestran los datos obtenidos en este trabajo y lo hasta ahora publicado en España.

En algunos estudios realizados en nuestro país, se esperaba que para finales del año 1987 la tasa de tuberculosis se elevara de 25.83/100.000, casos declarados en 1984, a 27.31/100.000 (298,299).

Ante los resultados obtenidos en este trabajo aportamos las siguientes conclusiones.

VI CONCLUSIONES .

VI CONCLUSIONES .

1.- En el Hospital General "Gregorio Marañón", de Madrid, el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida, SIDA, ha aumentado su frecuencia en los últimos años. En el año 1983 sólo se diagnosticó un caso y hasta el primer semestre del año 1987 contabilizamos los 100 pacientes aquí estudiados de forma prospectiva.

2.- La drogadicción por vía parenteral, IV, ha sido en nuestro Centro, el factor de riesgo más importante para la adquisición del síndrome, con porcentajes del 78%.

3.- La incidencia de infección por micobacterias en estos pacientes con SIDA presentó porcentajes muy elevados (69%).

4.- Cronológicamente la presentación clínica de la tuberculosis, en estos pacientes, ocurrió en un 95,65%, antes o concomitante con la presentación de otras infecciones oportunistas que definían el síndrome. Lo que la ha definido como infección oportunista diagnóstica de SIDA.

5.- Las muestras clínicas con mayor rentabilidad, en nuestro estudio, para el aislamiento de micobacterias han sido las biopsias: hepáticas, esplénicas, adenopatías, médula ósea y hemocultivos.

6.- Las micobacterias aisladas en estos pacientes fueron: *Mycobacterium tuberculosis* en el 98,55% y *Mycobacterium avium-intracellulare* en el 1,44%. Lo que demuestra que *Mycobacterium tuberculosis* tiene mayor incidencia, en nuestro medio, en estos pacientes con SIDA.

7.- La presentación clínica más frecuente de la tuberculosis, en estos pacientes con SIDA, ha sido la tuberculosis diseminada cuyas manifestaciones clínicas fueron

atípicas y difícilmente distinguibles de las causadas por otros microorganismos.

8.- Al ser la tuberculosis diseminada la presentación clínica más frecuente, el hemocultivo es la muestra de elección para su diagnóstico. Siendo en muchas ocasiones la primera muestra en la que se obtuvo crecimiento de micobacterias. Al no precisar en su obtención procedimientos cruentos, pensamos:

A.- Deben procesarse de forma rutinaria, en estos pacientes con el síndrome, ante la sospecha de infección diseminada por micobacterias.

B.- Estudiar su relación con la evolución del paciente y respuesta clínica al tratamiento.

C.- Al ser estadísticamente significativa la mortalidad en el grupo de infección tuberculosa diseminada en relación con el grupo de infección tuberculosa localizada, ($p < 0,005$), la realización del hemocultivo resulta una técnica necesaria, por su sencillez y rapidez, en el diagnóstico de la infección diseminada por micobacterias.

9.- Los estudios de sensibilidad, realizados algunas de las micobacterias aisladas, mostraron:

A.- Los aislados de *Mycobacterium tuberculosis* fueron sensibles a fármacos tuberculostáticos de primera línea.

B.- Los aislados de *Mycobacterium avium-intracellulare* fueron resistentes a estos fármacos.

10.- La mayor incidencia de la tuberculosis se encontró en el grupo de riesgo de los adictos IV, con porcentajes del 74,26% sobre el total de los pacientes infectados por micobacterias. Siendo estadísticamente superior, la infección por micobacterias, en este grupo de adictos IV, a la que se presenta en los otros grupos de riesgo para la adquisición del síndrome ($p < 0.005$).

11.- El diagnóstico de la tuberculosis, en todo paciente con SIDA, requiere la coordinación del trabajo de un patólogo y un microbiólogo por:

A.- Estar disminuida en estos pacientes la respuesta celular y por consiguiente la formación histológica de "granuloma".

B.- Si en este trabajo no se hubiesen realizado cultivo para aislamiento de micobacterias, en todas las biopsias procedentes de estos pacientes, no se hubiesen diagnosticado de tuberculosis el 42,55%. Al no existir, en gran parte de esta población estudiada, el hallazgo histológico propio de la infección por micobacterias.

12.- La prueba cutánea de Mantoux, en estos pacientes con SIDA e infectada por micobacterias, no tiene valor como marcador epidemiológico.

13.- Ante todos estos datos estará justificado, en nuestro medio, realizar estudio de anticuerpos frente a HIV a cualquier paciente que presente un cuadro de tuberculosis diseminada, o no común, aunque no pertenezca al grupo de individuos con factores de riesgo para el SIDA.

14.- Estos datos obligarán también, en nuestro medio, a incluir de forma rutinaria el estudio de micobacterias a todo paciente con diagnóstico de SIDA.

VII. ADDENDUM .

VII. ADDENDUM.

REVISION POR EL CDC DE LA NUEVA DEFINICION DEL SIDA

MMWR 1987; 36:3S-15S.

Center for Disease Control

Los CDC revisan en este suplemento la definición de SIDA con intención de adaptarla a las nuevas realidades y facilitar su comunicación. La definición se divide esencialmente en tres partes dependiendo del grado de evidencia existente de infección por HIV:

Se define un caso de SIDA como una enfermedad caracterizada por una o más de las siguientes "enfermedades indicadoras", dependiendo de la situación de evidencia de laboratorio de infección por HIV, como se muestra a continuación.

I. Sin evidencia de laboratorio de infección por HIV

Cuando no existan pruebas de laboratorio o hayan dado resultados inconcluyentes (ver Apéndice I) y el paciente no tenga otras causas de inmunodeficiencia de las mencionadas en el punto I-A, cualquier enfermedad de las descritas en el punto I-B indica SIDA, siempre que esté documentado por un método definitivo (ver Apéndice II).

I-A. Causas de inmunodeficiencia que descalifican enfermedades como indicadoras de SIDA, en ausencia de evidencia de laboratorio de infección por HIV .

1.- Tratamiento con altas dosis de corticosteroides, inmunodepresores o citotóxicos hasta periodos menores o iguales de 3 meses antes del comienzo de la enfermedad supuestamente indicadora.

2.- Cualquiera de las siguientes enfermedades diagnosticadas en un periodo inferior a 3 meses tras el diag-

nóstico de la enfermedad indicadora: enfermedad de Hodgkin, linfoma no Hodgkin (distinto al linfoma craneal primario), leucemia linfocítica, mieloma múltiple, cualquier otro cáncer de células histiocitarias o linforreticulares o linfadenopatía angioinmunoblástica.

3.- Un síndrome de inmunodeficiencia congénita o genética o un cuadro de inmunodeficiencia adquirida atípico de infección por HIV tal como la hipogammaglobulinemia.

I.B. Enfermedades indicadoras diagnosticadas de forma incontrovertible (ver Apéndice II).

1.- Candidiasis de esófago, tráquea, bronquio o pulmones.

2.- Criptococosis extrapulmonar.

3.- Criptosporidiosis con diarreas de más de 1 mes de duración.

4.- Infección por CMV en órganos distintos del hígado, bazo y ganglios linfáticos en personas mayores de 1 mes.

5.- Infección por virus Herpes simplex causando una úlcera mucocutánea que persista más de un mes; o bronquitis, neumonitis o esofagitis de cualquier duración que afecte a un paciente de más de 1 mes de edad.

6.- Sarcoma de Kaposi que afecta a un paciente de menos de 60 años de edad.

7.- Linfoma cerebral primario que afecta a pacientes de menos de 60 años de edad.

8.- Neumonía intersticial linfoide y/o hiperplasia pulmonar linfoide (complejo LIP/PLH) que afecta a niños de menos de 13 años de edad.

9.- Infección diseminada por el complejo *M. avium* o *M. kansasii* (lugares distintos a la piel, los pulmones o los ganglios linfáticos).

10.- Neumonía por *P. carinii*.

11.- Leucoencefalopatía multifocal progresiva.

12.- Toxoplasmosis cerebral afectando a pacientes de más de 1 mes de edad.

II. Con evidencia de laboratorio de infección por HIV

Cuando hay evidencia de infección por HIV (Apéndice I), cualquier enfermedad listada antes (I-B) o a continuación (II-A o II-B) indica un diagnóstico de SIDA, independientemente de otras causas de inmunodeficiencia (I-A):

II-A. Enfermedades indicadoras diagnosticadas definitivamente (ver Apéndice II).

1.- Infecciones bacterianas, múltiples o recurrentes (cualquier combinación, de al menos 2, en un periodo de 2 años), de los siguientes tipos, en niños menos de 13 años de edad:

Sepsis, neumonía, meningitis, infección osteoarticular, abscesos de órganos internos o cavidades corporales (se excluye la otitis media o abscesos superficiales de piel y mucosas), causados por *Haemophilus*, *Streptococcus* - (incluyendo neumococos) u otras bacterias piógenas.

2.- Coccidioidomicosis diseminada (afectando lugares distintos al pulmón, ganglios linfáticos cervicales o ganglios hiliares).

3.- Encefalopatía por HIV (también llamada demencia del SIDA, demencia del HIV o encefalitis subaguda por HIV) (Descripción en Apéndice II).

4.- Histoplasmosis diseminada (afectando lugares distintos al pulmón, ganglios linfáticos cervicales o ganglios hiliares).

5.- Isosporiasis con diarrea de más de 1 mes de duración.

6.- Sarcoma de Kaposi en cualquier edad.

7.- Linfoma cerebral primario en cualquier edad.

8.- Otros linfomas, no Hodgkin, de estirpe B o de fenotipo inmunológico desconocido, con los siguientes tipos histológicos:

a) Linfoma de células pequeñas no hendidas (Burkitt o no).

b) Sarcoma inmunoblástico (equivalente a cualquiera de los siguientes, aunque no necesariamente todos en combinación: linfoma inmunoblástico, linfoma de células grandes, linfoma histiocítico difuso, linfoma difuso diferenciado, linfoma de alto grado).

9.- Enfermedad causada por micobacterias, distintas a *M. tuberculosis* que tengan carácter diseminado (afectando a lugares distintos al pulmón, ganglios linfáticos cervicales o ganglios hiliares).

10.- Enfermedad extrapulmonar por *M. tuberculosis* (afectando al menos un lugar fuera del pulmón, exista o no afectación pulmonar concomitante).

11.- Bacteriemia recurrente por *Salmonella no typhi*

12.- Caquexia por HIV (Descripción en Apéndice II).

II-B. Enfermedades indicadoras diagnosticadas presuntamente (por métodos distintos que los del Apéndice II, resumidos en el Apéndice III).

1. Candidiasis esofágica.

2. Retinitis por CMV con pérdida de visión.

3. Sarcoma de Kaposi.

4. Neumonía intersticial linfoide y/o hiperplasia pulmonar linfoide en niños menores de 13 años de edad.

5. Enfermedad causada por micobacterias (presencia de BAAR sin identificación de especies por cultivo) diseminada (afectando al menos a un lugar fuera del pulmón, exista o no afectación pulmonar concomitante).

6. Neumonía por *P. carinii*.

7. Toxoplasmosis cerebral en pacientes de más de 1 mes de edad.

III. Con evidencia de laboratorio en contra de infección por HIV

En este caso (ver Apéndice I) debe excluirse el diagnóstico de SIDA, salvo que:

A. Se hayan excluido todas las otras causas de inmu-

modificiencia relacionadas con el punto I-A y

B. El paciente sufra:

1.- Neumonía por *P. carinii* probada de forma definitiva, (ver Apéndice II).

2.- a) Cualquier otra enfermedad indicadora de SIDA apuntada anteriormente en el punto I-B diagnosticada por un método definitivo (ver Apéndice II); b) Una cifra de células T colaboradoras (CD_4) de menos de 400/mm³.

Apéndice I. Evidencia de laboratorio a favor o en contra de infección por HIV

1.- A favor de infección.

Ante un paciente con una enfermedad compatible con SIDA:

a) una muestra de suero de un paciente mayor de 15 meses de edad, o de un niño menos de 15 meses cuya madre no se sospecha que haya sufrido infección por HIV durante el periodo perinatal del niño, que es repetidamente reactiva para la presencia de Ac frente a HIV por un prueba de despistaje (ej. ELISA), siempre y cuando las pruebas de confirmación (si se han realizado) sean positivas;

b) una muestra de suero de un niño menos de 15 meses de edad cuya madre se sospecha que ha sufrido infección por HIV durante el periodo perinatal del niño, que es repetidamente reactiva para Ac frente HIV por una prueba de despistaje (Ej; ELISA), más un aumento del nivel de las inmunoglobulinas séricas y al menos una de las siguientes pruebas inmunológicas alteradas: disminución del recuento global de linfocitos, disminución del recuento de células CD_4 o descenso del cociente CD_4/CD_8 , siempre que las pruebas de comprobación subsiguientes (ej; Western-blot, o inmunofluorescencia), si se han realizado, sean positivas;

c) una prueba positiva de detección de Ag de HIV en suero; o

d) Un cultivo positivo de HIV, (no la simple detección de la transcriptasa inversa), o por hibridación

"in situ" con una sonda de DNA.

2.- En contra de infección.

Una prueba de despistaje para la detección de Ac frente a HIV negativa (ej; ELISA), sin un resultado positivo en cualquier otra prueba de infección por HIV (ej; Ac, Ag o cultivo), si se hiciesen.

3 .- Sin datos concluyentes.

a) Una prueba de despistaje para Ac frente a HIV repetidamente positiva seguida de una prueba de confirmación negativa o inconcluyente (ej; Western-blot, inmunofluorescencia), en ausencia de una determinación de Ag o de un cultivo positivo, si se hiciese;

b) Una muestra de suero de un niño de menos de 15 meses de edad, cuya madre es sospechosa de infección por HIV durante todo el periodo neonatal del niño, que es repetidamente positiva para Ac frente a HIV por una prueba de despistaje, aún si fuese positiva por una prueba de confirmación, sin evidencia adicional de inmunodeficiencia como se describió anteriormente (en I-B) y sin un cultivo positivo de HIV o la presencia de Ag de HIV, si se hiciese

Apéndice II. Métodos diagnósticos definitivos para enfermedades indicadoras de SIDA .

ENFERMEDAD: Criptosporidiosis; Citomegalovirus; Sarcoma de Kaposi; Linfoma; Neumonía intersticial linfoide o hiperplasia linfoide pulmonar; Leucoencefalopatía multifocal progresiva; Toxoplasmosis.

MÉTODOS DIAGNÓSTICOS DEFINITIVOS. Microscopía (histología o citología).

ENFERMEDAD: Candidiasis:

MÉTODOS DIAGNOSTICOS DEFINITIVOS: Inspección macroscópica por endoscopia o autopsia o por microscopia (histología o citología) de una muestra obtenida directamente de los tejidos afectados (incluye extensiones de superficie mucosa), no por cultivo.

ENFERMEDAD: Coccidioidomicosis, Criptococosis, Histoplasmosis, y Virus Herpes simplex:

MÉTODOS DIAGNOSTICOS DEFINITIVOS: Microscopía (histología o citología), cultivo o detección de Ag en una muestra obtenida directamente de los tejidos afectados o de fluidos procedentes de los mismos.

ENFERMEDAD: Tuberculosis, Otras micobacteriosis, Salmonelosis, Otras infecciones bacterianas:

MÉTODOS DIAGNOSTICOS DEFINITIVOS: Cultivo.

ENFERMEDAD: Encefalopatía del HIV (Demencia):

MÉTODOS DIAGNOSTICOS DEFINITIVOS: Hallazgos clínicos de deterioro de conciencia y/o disfunción motora que interfiera con las actividades profesionales o de la vida diaria, o pérdida de los hitos básicos en el desarrollo en un niño, que progrese durante semanas o meses en ausencia de una enfermedad o condición distinta de la infección por HIV que pudiera explicar los hallazgos. Los métodos para excluir tales enfermedades distintas deben incluir examen del LCR y las imágenes cerebrales (TAC o RNM) o la autopsia.

ENFERMEDAD: Caquexia del HIV.

MÉTODOS DIAGNOSTICOS DEFINITIVOS: Hallazgo de una profunda pérdida de peso involuntaria mayor del 10% del peso corporal, sobre línea de peso corporal basal, más diarrea crónica (al menos dos deposiciones blandas al día durante más de un mes) y/o debilidad crónica y fiebre documentada (durante más de 30 días con carácter intermiten-

te o constante;) en ausencia de una enfermedad distinta de la infección por HIV que pudiera explicar los hallazgos. Ej: cáncer, tuberculosis, criptosporidiosis u otra enteritis específicas.

APENDICE III. PRUEBAS SUGERIDAS PARA EL DIAGNOSTICO PRESUNTIVO DE ENFERMEDADES INDICADORAS DE SIDA.

Enfermedades y Métodos diagnósticos definitivos .

Candidiasis esofágica .

a).- Comienzo reciente de dolor retroesternal con la deglución.

b).- Candidiasis oral diagnosticada por la aparición macroscópica de placas blanquecinas, sobre una base eritematosa, o por la presencia microscópica de elementos miceliares en un frotis tomado de la mucosa oral.

Retinitis por Citomegalovirus .

Apariencia característica en varios exámenes con oftalmoscopio (ej. manchas blanquecinas retinianas de bordes netos, dispersas de una manera centrifuga, siguiendo los vasos sanguíneos, que progresan a lo largo de varios meses, frecuentemente asociados con vasculitis retiniana, hemorragia y necrosis). La resolución de la enfermedad deja cicatrices y atrofia retiniana con un moteado pigmentario.

Micobacteriosis .

Examen microscópico de una muestra de heces o de un tejido o fluido corporal habitualmente estéril, distintos al pulmón, piel o ganglios linfáticos hiliares o cervicales, que muestren bacilos ácido-alcohol resistentes de una especie no identificada por cultivo.

Sarcoma de Kaposi .

Presencia macroscópica de lesiones características

eritemato-violáceas en la piel o membranas mucosas.

Neumonía intersticial linfoide .

Infiltrados pulmonares intersticiales, reticulonodulares, bilaterales, presentes en la radiografía de tórax durante dos meses, o más, sin que se hayan identificado patógenos ni haya habido respuesta a antimicrobianos.

Neumonía por *Pneumocystis carinii* .

a) Una historia de disnea de esfuerzo o tos no productiva de reciente aparición (en los últimos tres meses); y

b) Evidencia radiológica de infiltrados pulmonares intersticiales bilaterales, o presencia de una gammagrafía pulmonar con galio, que muestre la presencia de enfermedad bilateral y difusa; y

c) Gasometría arterial con PO_2 de menos de 70 mm Hg, o una baja capacidad de difusión respiratoria (menor del 80% de los valores supuestos), o un aumento en el gradiente de oxígeno alvéolo-arterial; y

d) Ausencia de pruebas a favor de neumonía bacteriana.

Toxoplasmosis cerebral .

a) Comienzo reciente de alteraciones neurológicas focales compatibles con enfermedad intracraneal o un nivel de conciencia reducido; y

b) Imagen cerebral con una lesión que tiene efecto de masa (TAC o RNM) o la apariencia radiológica de una lesión que se hace más potente con la inyección del contraste; y

c) Ac séricos antiToxoplasma o una respuesta con éxito a la terapéutica específica.

CARACTERES GENERALES DE LA FAMILIA MYCOBACTERIACEAE .

La familia Mycobacteriaceae comprende un sólo género: el *Mycobacterium*. Está muy relacionado con los géneros *Corynebacterium* y *Nocardia* de tal forma que han sido conocidos como grupo CNM (*Corynebacterium*-*Nocardia*-*Mycobacterium*). En la última edición del Bergey 1.986 añade a los géneros citados el de *Rhodococcus*, ya que todos comparten estructura de pared tipo IV (194,197,300-304).

Las micobacterias son microorganismos de difícil tinción pero una vez teñidas no se decoloran fácilmente, y por usarse en este proceso compuestos de ácido-alcohol, es por lo que se denominan bacilos ácido-alcohol resistentes, BAAR .

Son aerobios aunque su crecimiento se puede favorecer en atmósfera de CO₂ entre el 5-10%.

MORFOLOGIA .

Se presentan como bacilos rectos o curvos, a veces son septados, en otras ocasiones son formas coco bacilares e incluso pueden tener formas filamentosas figurando un micelio.

Este género incluye desde parásitos obligados, a saprofitos y a formas intermedias. No son productores de exotoxinas, endotoxinas ni otras enzimas que puedan provocar efectos adversos en el huésped.

Para su crecimiento las especies más rápidas requieren de 2-3 días con temperaturas de 20 °C-40 °C. La mayoría de las especies patógenas requieren de 2-6 semanas y a temperaturas restringidas, algunas de ellas inferiores a 37°C, mientras que otras especies crecerán mejor a temperaturas superiores. Hay algunas especies que no crecen in vitro (197,302,304).

ESTRUCTURA.

Uno de los componentes más importantes es la pared, que está constituida por cuatro capas:

1).- Peptidoglicano, constituida al igual que el resto de microorganismos que la poseen, por moléculas de N-acetilglucosamina, NAG, y N-acetil-murámico, NAM.

2).- Por polímeros del tipo de arabinosa y galactosa.

3).- Ácidos micólicos.

4).- Lípidos superficiales: micósidos, cord-factor y sulfolípidos.

Los constituyentes totales de la bacteria se pueden dividir en tres grupos: lípidos, proteínas y polisacáridos.

LÍPIDOS:

Constituyen el 40% del peso de la célula. Están localizados en la pared y comprenden:

a).- Ácidos grasos de cadena lineal, como ácido palmítico y esteárico.

b).- Ácidos grasos de cadenas ramificadas: micocerosicos, tubérculoesteárico, micólico y ptienoico.

Los ácidos micósidos tienen una función poco clara, pero en algunas especies *M. avium* y *M. smegmatis* actúan como receptores de fagos. En otras actúan como cubierta de defensa como ocurre en *M. lepraemurium*.

Los ácidos micólicos son los responsables de la dificultad en la tinción de estos microorganismos y de la ácido-alcohol resistencia.

c).- Lípidos neutros: triglicéridos y ceras.

Los triglicéridos son los responsables de la resistencia de estos gérmenes a condiciones adversas, y contribuyen a su supervivencia.

d).- Fosfolípidos: cardiolipinas, fosfatidil-etanolamina, fosfatidil-inositol. Se encuentran fundamentalmente en la membrana y contribuyen a las funciones de la misma.

e).- Glicolípidos: cord-factor, micósidos A,B,C y ésteres de trealosa.

f).- Sulfolípidos, lipopolisacáridos.

Algunos de estos componentes tienen propiedades antigénicas, especialmente en los fosfolípidos, ya que el cord-factor sólo la tienen cuando se une a un portador proteico y adyuvante.

PROTEINAS:

Después de los lípidos, son el componente más importante, y tienen capacidad antigénica. Son responsables de la reacción a tuberculina e inducen a la formación de Ac.

DETERMINANTES DE PATOGENICIDAD.

Aunque no son productores de exotoxinas, endotoxinas u otras enzimas, y no resisten mecanismos o factores patogénicos suficientemente aclarados, se han encontrado factores tóxicos que intervienen en la patogénesis como:

1.- "Cord-factor".

Se ha comprobado que la inoculación de esta sustancia, junto con albúmina bovina sérica metilada, adquiere antigenicidad, y este complejo produciría Ac específicos frente a cord-factor.

Los animales inoculados con este complejo sobreviven y se ha considerado que esta supervivencia es la consecuencia de la neutralización de la toxicidad del cord-factor por el Ac formado.

En experimentos posteriores se comprobó que estos Ac, que son protectores, se podían transmitir pasivamente, pero al haberse aislado este factor en micobacterias avirulentas se considera que aún siendo un factor importante en la patogenia de la enfermedad, no es el único.

También se ha demostrado en este factor la capacidad de formar granulomas, inhibir la diapedesis leucocitaria y lesionar "in vitro" las membranas mitocondriales.

2.-SULFOLIPIDOS.

Actúan aumentando la toxicidad del cord-factor, e inhiben la fusión fagosoma lisosoma que se ha comprobado es más lenta en cepas virulentas que en las avirulentas; al fallar esta fusión, la supervivencia del microorganismo en el interior del macrófago es mayor.

3.- MICOBACTINAS Y EXOQUELINAS.

Son sustancias que facilitan el Fe al microorganismo y lo recuperan, las primeras lo obtienen de la transferrina y las segundas de la ferritina, haciéndolo aprovechable para la bacteria, con lo que permite el crecimiento del bacilo virulento. Dado que estas sustancias son esenciales para este propósito, pueden considerarse factores de virulencia, pese a no causar efectos perjudiciales directos en el huésped (301,302).

CLASIFICACION DE MICOBACTERIAS .

Desde la década de los años 50 al conocerse el papel patógeno de las micobacterias no tuberculosas, se han utilizado múltiples clasificaciones de esta familia, pero la más aceptada es la de Runyon en 1.959 con un resultado práctico hoy día sólo desde el punto de vista didáctico.

Dicha clasificación se basa en los siguientes factores. (305).

- .- Velocidad de crecimiento.
- .- Producción de pigmento.
- .- Morfología de las colonias.

En un primer momento dicho autor las denominó "micobacterias atípicas", pero en 1.981 se cambió esta nomenclatura por la de "micobacterias otras que las tuberculosas", MOTT, que es la aceptada en la actualidad (180,303).

Diferenció con arreglo a esos parámetros cuatro grupos denominados por números romanos del I al IV. Cada grupo incluye varias especies que se diferenciarían por:

1.- En relación con la velocidad de crecimiento distingue:

Crecedores rápidos los que crecen antes de 7 días.

Crecedores lentos los que tardan más de 7 días.

Hay que tener en consideración que el tiempo de división de una micobacteria es desde 2 horas hasta 15-20 horas, con lo cual las colonias se harán visibles bien a los 2 días, crecedores rápidos, o a las 3, 4, ó 6 semanas, crecedores lentos.

2.- En relación con las producción de pigmento en presencia o ausencia de luz, distinguiendo:

Fotocromógenas, las que forman pigmento por inducción de la luz. Figura 4.

Escotocromógenas, las que forman pigmento sin necesidad de inducción por la luz, es decir también en la oscuridad. Figura 2.

No cromógenas, las que carecen de pigmentación. Figura 4.

3.- En relación con la morfología de las colonias distingue:

a). Rugosas, son colonias secas, blancas o de color crema y microscópicamente son rugosas con filamentos o pseudomicelios que se disponen de forma radiada.

b). Lisas, las colonias suelen ser circulares con una prominencia central que disminuye hacia la periferia; a veces son transparentes y otras son una mezcla de lisas y rugosas.

c). Rugosidad intermedia.

A veces producen filamentos ramificados que pueden penetrar en el medio, bien se elevan al aire o se extienden en la superficie.

Con estas propiedades descritas e incluyendo las micobacterias aceptadas por el International Committee on Systematic Bacteriology (ICBS) y las mencionadas en el nuevo Manual de Bergey, la clasificación sería la siguiente: (304)

A.- COMPLEJO TUBERCULOSIS.

Este grupo incluye:

Mycobacterium tuberculosis (M. tuberculosis).

Mycobacterium africanum (M. africanum).

Mycobacterium microti (M. microti).

GRUPO MYCOBACTERIUM BOVIS, que comprende:

Mycobacterium bovis (M. Bovis).

Bacilo de Calmette-Guerin (BCG).

B.- NICOBACTERIAS NO TUBERCULOSAS (MOTT).

GRUPO I.

Crecimiento lento y Fotocromógenas, comprende:

Mycobacterium kansasii (M. kansasii).
Mycobacterium simiae (M. simiae).
Mycobacterium marinum (M. marinum).
Mycobacterium asiaticum (M. asiaticum).

GRUPO II.

Crecimiento lento y Escotocromógenas, comprenden:

Mycobacterium scrofulaceum (M. scrofulaceum).
Mycobacterium gordonae (M. gordonae).
Mycobacterium szulgai (M. szulgai).
Mycobacterium flavescens (M. flavescens).

GRUPO III.

Crecimiento lento crecedor y No cromógenas :

GRUPO MYCOBACTERIUM AVIUM, comprende:

Mycobacterium avium (M. avium).
Mycobacterium intracellulare (M. intracellulare).
Mycobacterium gastri (M. gastri).
Mycobacterium malmoeense (M. malmoeense).
Mycobacterium haemophilum (M. haemophilum).

GRUPO MYCOBACTERIUM TERRAE, comprende:

Mycobacterium terrae (M. terrae).
Mycobacterium triviale (M. triviale).
Mycobacterium nonchromogenicum (M. nonchromogenicum).

GRUPO IV.

Crecimiento rápido, comprende:

Mycobacterium fortuitum sp *fortuitum* ((M. fortuitum sp *fortuitum*)).

Mycobacterium fortuitum sp *peregrinum* (M. fortuitum sp *peregrinum*).

Mycobacterium parafortuitum (M. parafortuitum).

Mycobacterium chelonae sp *chelonae* (M. chelonae).

Mycobacterium chelonae sp *abscesus* (M. chelonae sp *abscesus*).

Mycobacterium phlei (M. phlei).

Mycobacterium smegmatis (M. smegmatis).

Mycobacterium vaccae (M. vaccae).

Mycobacterium chitae (M. chitae).

Mycobacterium agri (M. agri).

Mycobacterium senegalense (M. senegalense).

Mycobacterium aichiense (M. aichiense).

Mycobacterium aurum (M. aurum).

Mycobacterium neoaurum (M. neoaurum).

Mycobacterium thermoresistibile (M. resistibile).

Mycobacterium chubuense (M. chubuense).

Mycobacterium duvalii (M. duvalii).

Mycobacterium flavescens (M. flavescens).

Mycobacterium gadium (M. gadium).

Mycobacterium gilvum (M. gilvum).

Mycobacterium komosense (M. komosense).

Mycobacterium obuense M. obuense).

Mycobacterium rhodesiae (M. rhodesiae).
Mucobacterium sphagni (M. sphagni).
Mycobacterium tokaiense (M. tokaiense).
Mycobacterium fallax (M. fallax).

Aparte de esta clasificación existen otras muchas, así como la de Collins en 1962, que diferencia 10 grupos basados en:

- .- Crecimiento a diferentes temperaturas.
- .- Crecimiento en medios especiales.
- .- Pigmentación.
- .- Sensibilidad a resistencia a Tiosemicarbazona.

En 1972 Marks y Richards, clasifican 7 grupos, basados en los criterios de Runyon, pero añadiendo:

- .- Crecimiento a diferentes temperaturas.

La temperatura óptima de crecimiento de las diferentes micobacterias es de 37 °C, pero, las hay que crecen a 22 °C como *M. smegmatis* y *M. scrofulaceum*.

Entre 30 °C y 32 °C crecen *M. marinum*, *M. ulcerans* y *M. haemophilum*.

A 45 °C crecen mejor *M. avium* y *M. xenopi*.

Entre los crecedores rápidos el *M. phlei* crece bien a 52 °C.

De esta forma Marks realizó una clasificación de las micobacterias en los siguientes grupos: (306).

.- Mesófilas que crecen a 37 °C pero también pueden hacerlo a 27 °C y 42 °C, como *M. kansasii*, *M. flavescens* *M. szulgai*

.- Mesófilas estrictas que crecen exclusivamente a

37 °C, *M. tuberculosis* y *M. bovis*.

.- Psicrófilas las que crecen a 25 °C pero algunas pueden realizarlo también a 37 °C, como ocurre con algunas variedades de *M. chelonae* sp *absceus*.

.- Termófilas que crecen mejor a 42 °C-45 °C, como *M. xenopi*, *M. avium*, *M. smegmatis* y *M. phlei*.

.- De amplia tolerancia, que pueden crecer a cualquier temperatura, pueden ser: *M. asiaticum*, *M. thermoresistibile*

En 1981 Bailey WC, hace una clasificación en relación con ser fáciles o difíciles de tratar, y las diferencia: (234)

.- De fácil tratamiento: *M. kansasii*, *M. szulgai* y *M. Marinum*.

.- De difícil tratamiento: *M. avium-intracellulare*, *M. simiae* y *M. scrofulaceum*.

**DIAGNOSTICO DE LOS INFECTADOS POR M. TUBERCULOSIS
POR PRUEBAS CUTANEAS. INTRADERMORREACCION DE MANTOUX**

Infección no es sinónimo de enfermedad, pero es necesaria para que la enfermedad aparezca. Por consiguiente es más frecuente la población infectada que la enferma, ya que en los infectados las defensas naturales van a evitar el progreso hacia la enfermedad (197,302,307).

Entre las personas infectadas con M. tuberculosis sólo el 5-10% progresan hacia enfermedad dentro de los primeros 5 años, entendiéndose como tal la aparición de sintomatología clínica con lesiones anatomopatológicas; de ellos sólo la mitad de los mismos desarrollan procesos cavitarios pulmonares, llegando a hacerse contagiosos (194, 302,307).

La detección rápida de la infección por M. tuberculosis se basa en una prueba dependiente de la inmunidad celular: la prueba intradérmica a la tuberculina o reacción de Mantoux.

La tuberculosis es el prototipo de infección que requiere la respuesta inmune celular para su control, pues aunque también existe una respuesta en la inmunidad humoral, con la formación de Ac, no se ha demostrado que ésta tenga un papel protector (194,197,302).

De esta defensa inmune celular depende la formación del "granuloma" y la respuesta a las intra-dermorreacciones a sensitinas específicas de las micobacterias; entre ellas, la fundamental es la ya citada reacción de Mantoux, que resulta un excelente marcador epidemiológico para diferenciar poblaciones vírgenes de las infectadas (307-310).

En esta prueba cutánea el Ag utilizado para su realización es conocido como PPD, (Derivado Proteico Purificado), no olvidemos que el primero que lo presentó fué el propio descubridor del bacilo tuberculoso, Roberto Koch, "vieja tuberculina", (OT), aunque es cierto que él lo presentó como tratamiento y no con la finalidad que se emplea hoy día como marcador epidemiológico.

Este Ag se obtiene a partir de un filtrado de cultivo de *M. tuberculosis* que se precipita con sulfato amónico o con ácido tricloroacético.

El primero que la denominó de esta forma, PPD, fué Seibert en 1.932, y la obtiene de un cultivo de *M. tuberculosis*. La PPD es un polvo blanco, soluble en agua y que contiene polisacáridos, ácidos nucleicos y lípidos.

En 1.941 él mismo obtiene un lote de PPD-S producto más purificado, que se precipita con sulfato amónico y que es lo que se ha considerado posteriormente como Patrón Internacional de PPD por el Comité de Expertos en Standardización Biológica de la OMS.

Se han ido obteniendo distintas tuberculinas creando al tiempo gran confusión. La OMS se ha preocupado de este problema, normalizando un lote con uso internacional, el PPD-RT23, para cubrir las necesidades de todos los países y tener resultados similares.

La tuberculina europea, la PPD-RT23, preparada por Magnusson en Copenhage, utiliza como precipitante el ácido tricloroacético, en lugar del sulfato amónico empleado por Seibert, por lo que el contenido de polisacáridos es menor en la PPD-RT23 que en la PPD-S, pero por el contrario el contenido de ácidos micólicos es mayor.

Esta diferencia de composición hace que sea diferente la actividad biológica, pero se puede relacionar la actividad de ambas tuberculinas haciendo la correspondencia de que 5 UT de PPD-S son equivalentes a 2 UT, ó, 2,5 UT de PPD-RT23.

La PPD-RT23 evidencia mejor el estado de sensibilidad no específico, por lo que no debe emplearse en países donde existe gran sensibilidad a micobacterias no tuberculosas y donde será necesario el uso de la PPD-S como Ag de elección. En países como el nuestro en que la sensibilidad tuberculina es casi de tipo específico, la tuberculina PPD-RT23 sigue siendo la de elección.

Este medio de diagnóstico de infección por *M. tuberculosis* resulta, a veces, más sensible que la radiología.

Para su valoración se precisan, para confirmar su negatividad, la aplicación de tres dosis intradérmicas: una primera de 1UT, una segunda de 2UT y una tercera de 5UT con lecturas a las 48-72 horas. El diámetro de induración de 0-4mm se considera negativo, el de 5-9mm se considera como dudoso y el de 10mm o más positivo; éste es el tamaño mínimo de induración para considerar a un individuo como reactor.

Los test cutáneos pueden usarse también para identificar micobacterias del grupo MOTT según la clase de sensitina empleada, y así hay comercializadas, aunque no todas en España, las siguientes en relación con los grupos de la clasificación de Runyon:

PPD-Y para el Grupo I.
PPD-G para el Grupo II.
PPD-B para el Grupo III.
PPD-F para el Grupo IV.

Cada sujeto infectado con una de ellas dará una positividad al grupo adecuado.

Aunque una prueba de sensibilidad con cualquier PPD significa infección, no siempre su positividad manifiesta enfermedad activa; por el contrario un 70% de pacientes con enfermedad activa presentan PPD(-) (307).

Esta negatividad en las pruebas de intradermorreacción a diferentes sensitinas y fundamentalmente a PPD-S, la encontramos en: enfermedades víricas que dan anergia transitoria, como por ej el Sarampión, la Sarcoidosis, la terapia con corticoides, la caquexia, en neoplasias y el empleo de ciertos agentes citotóxicos (194).

No hay que olvidar el grupo de pacientes, con enfermedad activa, que tienen pruebas tuberculínicas negativas sin ninguna otra enfermedad de base. Esto es debido a que las micobacterias, en sí mismas, producen anergia, siendo así la tuberculosis miliar el mejor ejemplo de este fenómeno. Los pacientes recuperan la reactividad a la tuberculina en el curso de la terapia antituberculosa.

El mecanismo de anergia en la tuberculosis se comprendió bien con la detección de la supresión en la actividad celular en sangre periférica en pacientes con tuberculosis y PPD negativos.

VIII. BIBLIOGRAFIA

VIII. BIBLIOGRAFIA

- 001.- Coffin J, Haase A, Levy JA y cols. Human immunodeficiency viruses. *Science*. 1.986; 232: 697.
- 002.- Marx JL. AIDS virus has new name-perhaps. *Science*. 1.986; 232: 699-700.
- 003.- Centers for Disease Control. *Pneumocystis pneumonia*. Los Angeles. *MMWR*. 1.981; 30: 250-252.
- 004.- Centers for Disease Control. Kaposi's sarcoma and *Pneumocystis pneumonia* among homosexual men. New York City and California. *MMWR*. 1.981; 30: 305-308.
- 005.- Gottlieb MS, Schroff R, Schanker HM y cols. *Pneumocystis carinii pneumonia* and mucosal candidiasis in previously healthy homosexual men. Evidence of a new acquired cellular immunodeficiency. *N Engl J Med*. 1.981; 305: 1425-1431.
- 006.- Hymes KB, Cheung T, Green J B y cols. Kaposi's sarcoma in homosexual men. A report of eight cases. *Lancet*. 1.981; 2: 598-600.
- 007.- Masur H, Michelis MA, Green JB. An outbreak of community-acquired *Pneumocystis carinii pneumonia*. Initial manifestation of cellular immune dysfunction. *N Engl J Med*. 1.981; 305: 1431-1438.
- 008.- Siegal FP, López C, Hammer GS y cols. Severe acquired immunodeficiency in male homosexuals, manifested by chronic perianal ulcerative herpes simplex lesions. *N Engl J Med*. 1.981; 305: 1439-1444.
- 009.- Center for Disease Control. Persistent, generalized

lymphadenopathy among homosexual males. *MMWR*. 1982; 31: 249-250.

010.- Doll DC, List AF. Burkitt's Lymphoma in a homosexual. *Lancet*. 1982; 1: 1026-1027.

011.- Friedman-Kien AE, Laubenstein LJ, Rubinstein P y cols. Disseminated Kaposi's sarcoma in homosexual men. *Ann Intern Med*. 1982; 96: 693-700.

012.- Masur H, Michelis MA, Wormser GP, y cols. Opportunistic infection in previously healthy women. Initial manifestations of a community-acquired cellular immunodeficiency. *Ann Intern Med*. 1982; 97: 533-539.

013.- Miller JR, Barret RE, Britton CB. Progressive multifocal leukoencephalopathy in a male homosexual with T-cell immune deficiency. *N Engl J Med*. 1982; 307: 1436-1438.

014.- Stahl RE, Friedman-Kien A, Dubin R. Immunologic abnormalities in homosexual men. Relationship to Kaposi's sarcoma. *Am J Med*. 1982; 73: 171-178.

015.- Pinching AJ, Mc Manus TJ, Jeffries D y cols. Studies of cellular immunity in male homosexuals in London. *Lancet*. 1983; 2: 126-130.

016.- Center for Disease Control. Opportunist infections and Kaposi's sarcoma among Haitians in the United States. *MMWR*. 1982;31: 353-354.

017.- Pitchenik AE, Fischl MA, Dickinson GM y cols. Opportunistic infections and Kaposi's sarcoma among Haitians. Evidence of a new acquired immunodeficiency state. *Ann Intern Med*. 1983; 98: 277-284.

018.- Vieira J, Frank E, Spira TJ, Landesman SH. Acquired immunodeficiency syndrome in Haitians, oportunist infection in previously healthy haitian immigrants. *N Engl J Med.* 1.983; 308: 125-129.

019.- Center for Disease Control. Epidemiological aspects of the current outbreak of Kaposi's sarcoma and opportunistic infections. *N Engl J Med.* 1.982; 306: 248.

020.- Center for Disease Control. Update on acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) United States. *MMWR.* 1982;31: 507-513

021.- Gallo RC, Shaw GM, Markham PD. The etiology of AIDS. En: AIDS. Etiology, diagnosis, treatment and prevention. Ed: De Vita VT, Hellman S y Rosenberg SA. J.B. Lippincott Company. Philadelphia, 1.985; Cap.2 : 31-54.

022.- Ammann AJ, Wara DW, Dritz S. Acquired immunodeficiency in an infant possible transmission by means of blood products. *Lancet.* 1.983; 1: 956-958.

023.- Davis KC, Horsburgh CR, Hasiba U y cols. Acquired Immunodeficiency Syndrome in a patient with hemophilia. *Ann Intern Med.* 1.983; 98: 284.

024.- Shazo RD, Andes WA, Nordberge J y cols. An immunologic evaluation of hemophiliac patients and their wives. Relationships to the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med.* 1.983; 99: 159-164.

025.- Levine PH. The Acquired Immunodeficiency Syndrome in persons with hemophilia. *Ann intern Med.* 1.985;103:723-726.

026.- Castro KG, Hardy AM, Curran JW. The acquired immunodeficiency syndrome: epidemiology and risk factors for

transmission. *Med Clin North Am.* 1.986;70: 635-649

027.- Lifson AR, Ancelle RA, Brunet JB y cols. The epidemiology of AIDS worldwide. *Clin Immunol Allergy.* 1.986; 6: 441-465

028.- Weiss SH, Biggar RJ. The epidemiology of Human Retrovirus-Associated illnesses. *Mt Sinai J Med.* 1.986; 8: 579-591.

029.- Clumek N, Robert-Guroff H, Van de Perre Ph y cols. Seroepidemiological studies of HTLV III antibody prevalence among selected groups of heterosexual Africans. *J A M A.* 1.985; 254: 2599-2602.

030.- Redfield RR, Markham Ph, Salahuddin SZ y cols. Heterosexually acquired HTLV III/LAV disease (AIDS-related complex and AIDS): epidemiological evidence for female to male transmission. *J A M A* 1.985; 254: 2094-2096.

031.- Scott GB, Fischl MA, Klimus N y cols. Mothers of infants with the acquired immunodeficiency syndrome: evidence for both symptomatic and asymptomatic carriers. *J A M A.* 1.985; 253: 363-366.

032.- Vogt NW, Graven DE, Grawford DP y cols. Isolation of HTLV III/LAV from cervical secretions of women at risk for AIDS. *Lancet.* 1.986; 1: 525-527.

033.- Wofsey CB, Cohen JB, Honer LB y cols. Isolation of AIDS-associated retrovirus from genital secretions of women with antibodies to the virus. *Lancet.* 1.986; 1: 527-529.

034.- Kreiss JK, Koech D, Plummer FA y cols. AIDS virus infection in Nairobi prostitutes. Spread of the epidemic to East Africa. *N Engl J Med.* 1986;314: 414-418.

035.- Friedland GH, Klein SR. Transmission of the human immunodeficiency virus. *N Eng J Med.* 1987; 317: 1125-1135.

036.- Masur H, Kovacs JA, Ognibene F y cols. Infectious complications of AIDS. En: AIDS. Etiology, diagnosis, treatment and prevention. Ed: De Vita VT, Hellman S, Rosenberg SA. J.B. Lippincott Company. Philadelphia 1.985. cap 6: pp 161-184.

037.- Polk BF, Fox R, Brookmeyer R, y cols. Predictors of the acquired immunodeficiency syndrome developing in a cohort of seropositive homosexual men. *N Engl J Med.* 1.987; 316: 61-66.

038.- Groopman JE, Salahuddin SZ, Sarngadharan MG y cols. HTLVIII in saliva the people with AIDS-related complex and healthy homosexual men at risk for AIDS. *Science.* 1.984; 226: 447-449.

039.- Stewart G, Tyler J, Cunningham A y cols. Transmission of T-cell Lymphotropic virus tipo III (HTLV-III) by artificial insemination by donor. *Lancet.* 1.985; 2(I):581-584.

040.- Centers for Disease Control. Apparent transmission of human T-lymphotropic virus type III/lymphadenopathy associated virus from a child to a mother providing health care. *MMWR.* 1.986; 35: 76-79.

041.- Mc Cray E. Occupational risk of the acquired immunodeficiency syndrome among health care workers. *N Engl J Med.* 1.986; 314: 1127-1132.

042.- Barré-Sinoussi F, Cherman JC, Rey F y cols. Isolation of a T-lymphotropic retrovirus from a patient at risk for acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). *Science.* 1.983; 220: 868-871.

043.- Montagnier L. Lymphadenopathy-associated virus: from molecular biology to pathogenicity. *Ann Intern Med.* 1.985; 103:689-693.

044.- Gallo RC, Salahuddin SZ, Popovic M, y cols. Frequent detection and isolation of cytopathic retroviruses (HTLV-III) from patients with AIDS and at risk for AIDS. *Science.* 1.984; 224: 500-503.

045.- Levy JA, Hoffman AD, Kramer SM y cols. Isolation of lymphocytopathic retroviruses from San Francisco patients with AIDS. *Science.* 1984; 225: 840-843.

046.- Barré-Sinoussi F, Chermann JC. The etiologic agent of AIDS. *Mt Sinai J Med.* 1.986; 53: 598-608.

047.- Jeffries DJ. Virological aspects of AIDS. *Clin Immunol Allergy.* 1.986; 6: 627-643

048.- Janda WM. AIDS and HIV: Recent findings and futures directions. *Clin Microbiol Newslett.* 1.987; 9: 10-15.

049.- Shaw GM, Beatrice HH, Suresh KA y cols. Molecular characterization of human T cell leukemia (lymphotropic) virus type III in the acquired immune deficiency syndrome. *Science.* 1.984; 226: 1165-1171.

050.- Allan JS, Coligan JE, Lee TH. A new HTLV-III/LAV encoded antigen detected by antibodies from AIDS patients. *Science.* 1.985; 230: 810-813.

051.- Sodroski GM, Rosen G, Wong-Staal F y cols. Transacting transcriptional regulation of human T-cell leukemia virus type III long terminal repeat. *Science.* 1.985; 227: 171-173.

052.- Gottlieb MS. Immunologic aspects of the Acquired Immunodeficiency Syndrome and male homosexuality. *Med Clin North Am.* 1.986; 70: 651-664.

053.- Lee TH, Coligan JE, Allan JS y cols. A new HTLV III/LAV protein encoded by a gene found in cytopathic retroviruses. *Science.* 1.986; 231: 1546-1549.

054.- Sodroski J, Goh WC, Rosen C y cols. Replicative and cytopathic potential of HTLV-III/LAV with sor gene deletions. *Science.* 1.986; 231: 1549-1553.

055.- De La Loma. Biología del virus de la Inmunodeficiencia Humana: un camino hacia la prevención del SIDA. *Enf Infec Microbiol Clin.* 1.987;5:240-245.

056.- Kanki PJ, Alroy J, Essex M. Isolation of T-lymphotropic retrovirus related to HTLV-III/LAV from wild-caught green monkeys. *Science.* 1.985; 230: 951-954.

057.- Letvin NL, Daniel MD, Shagal PK y cols. Induction of AIDS-like disease in macaque monkeys with T-cell tropic retrovirus STLV-III. *Science.* 1.985; 230: 71-73.

058.- Kanki PJ, Barin F, M'Boup S y cols. New human T-lymphotropic retrovirus related to simian T-lymphotropic virus type III (STLVIII). *Science.* 1.986; 232: 238-243.

059.- Asjo B, Albert J, Karlsson A y cols. Replicative capacity of human immunodeficiency virus from patients with varying severity of HIV infection. *Lancet.* 1.986; 2: 660-662.

060.- Rey P, Salaun D, Lesbordes JL y cols. HIV I and HIV II. Double infection in Central African Republic. *Lancet.* 1.986; 2(II): 1391-1392.

060 bis.- Clavel P, Mansinho K, Chamaret S y cols. Human immunodeficiency virus type 2 infection associated with AIDS in West Africa. *N Engl J Med.* 1987; 316: 1180-1185.

061.- Seligman M, Pinching AJ y cols. Immunology of human immunodeficiency virus infection and the acquired immunodeficiency syndrome. An up date. *Ann Intern Med.* 1987; 107: 234-242.

062.- Lane HC, Massur H, Edgar LC y cols: Abnormalities of B cell activation and immunoregulation in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med.* 1983; 309: 453-458.

063.- Lane H.C, Depper J M, Green W C y cols. Qualitative analysis of immune function in patients with the acquired immune deficiency syndrome. Evidence for a selective defect in soluble antigen recognition. *N Engl J Med.* 1985; 313: 79-84.

064.- Center for Infectious Diseases, CDC. Classification system for Human T-Lymphotropic virus Type III/Lymphadenopathy-associated virus infections. *MMWR.* 1986; 35: 334-339.

065.- Mc Cutchan JA, Mathews WCh. Acquired immunodeficiency syndrome. En: Infectious diseases and Medical Microbiology. Ed: Braude AI, Davis ChE, Fierer J. 2nd Edition. WB, Saunders Company. 1986; cap 273: 1568-1581

066.- Center for Disease Control. Revision of the case definition of acquired immunodeficiency syndrome for national reporting-United States. *MMWR.* 1985; 34: 373-376.

066 bis .- Center for Disease Control. Revision of the CDC surveillance case definition for acquired immunodeficiency syndrome. *MMWR.* 1987;36: 3S-15S.

067.- Rogers MF, Morens DM, Stewart JA y cols. National case-control study of Kaposi's sarcoma and *Pneumocystis carinii* pneumonia in homosexual men: Part 2, Laboratory results. *Ann Intern Med.* 1983; 99: 151-158.

068.- Landsman SH, Frank E, Vieira J. In AIDS. The epidemic of Kaposi's sarcoma and opportunistic infections. Ed: Friedman-Kien AE and Labenstein L. Masson Publis USA. New York. 1984: 301-304.

069.- Massur H, Macher AM. Acquired immuno deficiency syndrome (AIDS). En: Principles and practice of infectious diseases. 2th edition. Ed by: Mandell GL, Douglas RG, Bennett JE. A Wiley Medical Publication. John Willy & Sons. New York. 1985. chap 273: pp 1670-1674.

070.- Redfield RR, Wright DG, Tramont EC. The Walter Reed staging classification for HTLV-III/LAV infection. *N Engl J Med.* 1986; 314: 131-132.

071.- Petricciani JC. Licensed tests for antibody to human T-lymphotropic virus type III. Sensitivity and specificity. *Ann Intern Med.* 1985; 103: 726-729.

072.- Groopman JE, Chen FW, Hope JA, y cols. Serological characterization of HTLV-III infection in AIDS and related disorder. *J Infect Dis.* 1986; 153: 736-742.

073.- Bedarida G, Gambiê G, D'Agostino F y cols. HIV IgM antibodies in risk groups who are seronegative on ELISA testing. *Lancet.* 1986; 2: 570-571.

074.- Goudsmith J, Paul DA, Lange JM y cols. Expression of human immunodeficiency virus antigen (HIV-Ag) in serum and cerebrospinal fluid during acute and chronic infection. *Lancet.* 1986; 1: 177-180.

075.- Post MJ, Chan JC, Hensley GT, y cols. Toxoplasma encephalitis in Haitian adults with acquired immunodeficiency syndrome. A clinical-pathologic-CT correlation. *Am J Radiol.* 1.983; 140: 861-868.

076.- Luft BJ, Brooks RG, Conley FK, y cols. Toxoplasmic encephalitis in patients with acquired immune deficiency syndrome. *J A M A.* 1.984; 252: 913-917.

077.- Wong G, Gold JWM, Brown AE y cols. Central nervous system toxoplasmosis in homosexual men and parenteral drug abusers. *Ann Intern Med.* 1.984; 100: 36-42.

078.- Luft BJ, Remington JS. Toxoplasmosis of the Central Nervous System. En Remington SJ, Swartz MN (Eds) *Current clinical topics in Infectious Diseases.* Vol 6. New York. McGraw-Hill Book Co. 1.985. pp 315-358.

079.- Hofflin JM, Remington JS. Tissue culture isolation of Toxoplasma from blood of a patient with AIDS. *Arch Intern Med.* 1.985; 145: 925-926.

080.- Shepp DH, Hackman RC, Conley FK y cols. Toxoplasma gondii reactivation identified by detection of parasitemia in tissue culture. *Ann Intern Med.* 1.985; 103: 218-221.

081.- Bird RG, Smith MD. Cryptosporidiosis in man: parasite life cycle and fine structural pathology. *J Pathol.* 1.980; 132: 217-233.

082.- Clinicopathological conference. Immunodeficiency and cryptosporidiosis. *Br Med J.* 1.980; 281: 1123-1127.

083.- Tzipori S, Angus KW, Gray EW y cols. Vomiting and diarrhea associated with cryptosporidial infection. *N Engl J Med.* 1.980; 303: 818.

084- Tzipori S, Campbell I. Prevalence of *Cryptosporidium* antibodies in 10 animal species. *J Clin Microbiol.* 1981; 14: 455-456.

085.- Centers for Disease Control. Update: Treatment of Cryptosporidiosis in patients with Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS). *MMWR.* 1984; 33: 117-119.

086.- Lefkowitz JH, Krumholz S, Fengchen KCH y cols. Cryptosporidiosis of the human small intestine: a light and electron microscopic study. *Hum Pathol.* 1984; 15: 746-752.

087.- Wolfson JS, Richter JM, Waldrom MA, y cols. Cryptosporidiosis in immunocompetent patients. *N Engl J Med.* 1985; 312: 1278-1282.

088.- Navin TR, Hardy AM. Cryptosporidiosis in patients with AIDS. *J Infect Dis.* 1987; 155: 150.

089.- Ma P, Villanueva TG, Kaufman D, et al. Respiratory cryptosporidiosis in the acquired immunodeficiency syndrome. Use of modified cold Kinyoun and Hemacolor stains for rapid diagnosis. *JAMA.* 1984; 252: 1298-1301.

090.- Miller RA, Wasserheit JN, Kirihara J, Coyle MB. Detection of *Cryptosporidium* oocysts in sputum during screening for mycobacteria. *J Clin Microbiol.* 1984; 1192-1193.

091.- Forthal DN, Guest SS. *Isospora belli* enteritis in three homosexual men. *Am J Trop Med Hyg.* 1984; 33: 1060-1064.

092.- Whiteside ME, Barkin JS, May RG, y cols. Enteric coccidiosis among patients with the acquired immunodeficiency syndrome.

ciency syndrome. *Am J Trop Med Hyg.* 1.984; 33: 1065-1072.

093.- Ng E, Markell EK, Fleming RL, y cols. Demonstration of *Isospora belli* by acid-fast stain in a patient with acquired immune deficiency syndrome. *J Clin Microbiol.* 1984; 20: 384-386.

094.- DeHovitz JA, Pape JW, Boncy M, y cols. Clinical manifestations and therapy of *Isospora belli* infection in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med.* 1.986; 315: 87-90.

095.- Centers for Disease Control. Acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). Update United States. *MMWR.* 1.983; 32: 309.

096.- Kovacs JA, Hiemenz JW, Macher AM, y cols. *Pneumocystis carinii* pneumonia: A comparison between patients with the acquired immunodeficiency syndrome and patients with other immunodeficiencies. *Ann Intern Med.* 1.984; 100:663-671.

097.- Rosen MJ, Tow TWY, Chuang MT, y cols. Prognosis of *Pneumocystis carinii* pneumonia in the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med.* 1.984; 101: 276.

98.- Maddison SE, Walls KW, Haverkos HW, y cols. Evaluation of serologic tests for *Pneumocystis carinii* antibody and antigenemia in patients with Acquired Immunodeficiency syndrome. *Diag Microbiol Infect Dis.* 1.984; 2: 69-73.

99.- Pifer L, Lattuda CP, Edwards CC y cols. *Pneumocystis carinii* infection in germ-free rats: implications for human patients. *Diag Microbiol Infect Dis.* 1.984; 2: 23-36.

100.- Bartlett MS, Eichholtz R, Smith JW. Antimicrobial susceptibility of *Pneumocystis carinii* in culture. *Diag*

Microbiol Infect Dis. 1.985; 3: 381-387.

101.- Coleman DL, Dodek PM, Luce JM y cols. Diagnostic utility of fiberoptic bronchoscopy in patients with Pneumocystis carinii pneumonia and the acquired immune deficiency syndrome. Am Rev Respir Dis. 1.983; 128: 795-799.

102.- Murray JF, Felton CP, Garay SM y cols. Pulmonary complications of the acquired immunodeficiency syndrome. Report of a National Heart, Lung and Blood Institute Workshop. N Engl J Med. 1.984; 310: 1682-1688.

103.- Ognibene FP, Shelhamer J, Gill V y cols. The diagnosis of Pneumocystis carinii pneumonia in patients with the acquired immunodeficiency syndrome using subsegmental bronchoalveolar lavage. Am Rev Respir Dis. 1.984; 129: 929-932.

104.- Stover DE, Zaman MB, Hajdu SI, y cols. Bronchoalveolar lavage in the diagnosis of diffuse pulmonary infiltrates in the immunosuppressed host. Ann Intern Med. 1.984; 101: 1-7.

105.- Broadbuss C, Dake MD, Stulberg MS, y cols. Bronchoalveolar lavage and transbronchial biopsy for the diagnosis of pulmonary infections in the acquired immunodeficiency syndrome. Ann Intern Med. 1.985; 102:747-752.

106.- Wallace JM, Batra P, Gong H, y cols. Percutaneous needle lung aspiration for diagnosing pneumonitis in the patient with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). Am Rev Respir Dis. 1985; 131: 389-392.

107.- Bigby TD, Margolskee D, Curtis JL, y cols. The usefulness of induced sputum in the diagnosis of Pneumocystis carinii pneumonia in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. Am Rev Respir Dis. 1.986; 133: 515-518.

108.- Churukian CJ, Schenk EA. Rapid Grocott's methenamine-silver nitrate method for fungi and *Pneumocystis carinii*. *Am J Clin Pathol.* 1977; 68: 427-428.

109.- Felegis TP, Pasculle AW, Dekker A. Recognition of *Pneumocystis carinii* by Gram stain in impression smears of lung tissue. *J Clin Microbiol.* 1984; 20: 1190-1191.

110.- Ruskin J. Newer developments in diagnosis and treatment of *Pneumocystis* infections. En Remington JS, Swartz MN (Eds) *Current clinical topics in Infectious Diseases*. New York. McGraw-Hill Book Co. 1986; Vol 7: pp 194-215.

111.- Gordin PM, Simon GL, Wofsy CB, y cols. Adverse reactions to trimethoprim-sulfamethoxazol in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med.* 1984; 100: 495-499.

112.- Shelhamer JH, Ognibene FP, Macher AM, y cols. Persistence of *Pneumocystis carinii* in lung tissue of acquired immunodeficiency syndrome patients treated for *Pneumocystis pneumonia*. *Am Rev Respir Dis.* 1984; 3: 1161-1165

113.- Small CB, Harris CA, Friedland GH, y cols. The treatment of *Pneumocystis carinii pneumonia* in the Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Arch Intern Med.* 1985; 145: 837-840.

114.- Allegra CJ, Drake JC, Swan J, y cols. Preliminary results of a phase I-II trial for the treatment of *Pneumocystis carinii pneumonia* using a potent lipid-soluble dihydrofolate reductase inhibitor, trimetrexate (Abstract). *Proceedings and Abstracts of the 26th Interescience Conference on Antimicrobials and Antibiotibiotic Chemotherapy*. Washington, DC. American Society for Microbiology, 1986; 224

115.- Allegra CJ, Kovacs JA, Drake JC, y cols. Potent in vitro and in vivo antitoxoplasma activity of the lipid-soluble antifolate trimetrexate. J Clin Invest. 1.987; 79: 478-482.

116.- De Vita VT, Broder S, Fauci AS, y cols. Developmental therapeutics and the acquired immunodeficiency syndrome. Ann Intern Med. 1.987; 106: 568-581.

117.- Centers for Disease Control. Severe neutropenia during pentamidine treatment of Pneumocystis carinii pneumonia in patients with acquired immunodeficiency syndrome. New York City. MMWR. 1.984; 33:65-67.

118.- Centers for Disease Control. Pentamidine methanesulfonate to be distributed by CDC. MMWR. 1.984; 33: 225-226.

119.- Ganda OP. Pentamidine and hypoglycemia. Ann Intern Med. 1.984; 100: 464.

120.- Anónimo. Pentamidine for Pneumocystis carinii pneumonia. Med Lett Drugs Ther. 1.985; 27: 6-7

121.- Sensakovic JW, Suarez M, Pérez G, y cols. Pentamidine treatment of Pneumocystis carinii pneumonia in the acquired immunodeficiency syndrome. Association with acute renal failure and myoglobinuria. Arch Intern Med. 1.985; 145: 2247.

122.- Golden JA. Pneumocystis carinii pneumonia treated with alpha-difluoromethylornithine. A prospective study among patients with the acquired immunodeficiency syndrome. West J Med. 1.984; 141: 613.

123.- Hughes WT, Smith BL. Efficacy of diaminodiphenylsulfone and other drugs in murine Pneumocystis carinii pneumonitis. Antimicrob Agents Chemother. 1.984; 26: 436-440.

124.- Leoung GS, Mills J, Hopewell PC, y cols. Dapsone-trimethoprim for *Pneumocystis carinii* pneumonia in the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med.* 1986; 105: 45-48.

124 bis.- Montgomery AB, Debs RJ, Luce JM, y cols. Aerosolised pentamidine as sole therapy for *pneumocystis carinii* pneumonia in patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Lancet.* 1987; II:480-483.

125.- Armstrong D, Gold JW, Dryjanski J, y cols. Treatment of infections in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med.* 1985; 103: 738-743.

126.- Kovacs JA, Kovacs AA, Polis M, y cols. Cryptococcosis in the Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Ann Intern Med.* 1985; 103: 533-538.

127.- Zuger A, Louie E, Holzman RS, y cols. Cryptococcal disease in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. Diagnostic features and outcome of treatment. *Ann Intern Med.* 1986; 104: 234-240.

128.- Bouza E. Micosis sistémicas. En: *Enfermedades Infecciosas*. Perea EJ (ed). Ed. Salvat., Barcelona. 1983. pp 1127-1172.

129.- Klein RS, Harris CA, Small CB, y cols. Oral candidiasis in high risk patients as the initial manifestation of the acquired immunodeficiency syndrome. *N Engl J Med.* 1984; 311: 354-358.

130.- Tavitian A, Raufman JP, Rosenthal LE y cols. Oral candidiasis as a marker for esophageal candidiasis in the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med.* 1986; 104: 54-55.

131.- Asensi V, Carton A, Cárcaba V y cols. Candidiasis diseminada, inmunocompetencia e infección por HTLV-III en adictos a narcóticos intravenosos. *Med Clin.(Barc)* 1.987; 88/6: 257.

132.- Roberts CJ. Coccidioidomycosis in acquired immune deficiency syndrome. Depressed humoral as well as cellular immunity. *Am J Med.* 1.984; 76: 734-736.

133.- Taylor MN, Baddour LM, Alexander JR. Disseminated histoplasmosis associated with the Acquired immune deficiency syndrome. *Am J Med.* 1.984; 77: 579-580.

134.- Wheat LJ, Slama TG, Zeckel ML. Histoplasmosis in the acquired immunodeficiency syndrome. *Am J Med.* 1.985; 78: 203-210.

135.- Bronnimann DA, Adam RD, Galgiani JN, y cols. Coccidioidomycosis in the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med.* 1.987; 106: 372-379.

136.- Knapp AB, Horst DA, Eliopoulos G, y cols. Widespread cytomegalovirus gastroenterocolitis in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. *Gastroenterology.* 1.983; 85: 1399-1402.

137.- Mintz L, Drew WL, Miner RC, y cols. Cytomegalovirus infections in homosexual men. An epidemiological study *Ann Intern Med.* 1.983; 99: 326-329.

138.- Felsenstein D, D'Amico DJ, Hirsch MS, y cols. Treatment of cytomegalovirus retinitis with 9- 2-hydroxy-1-(hydroxymethyl) ethoxymethyl guanine. *Ann Intern Med.* 1.985; 103: 377-380.

139.- Moskowitz LB, Kory P, Chan JC y cols. Unusual causes

of death in haitians residing in Miami. High prevalence of opportunistic infections. *J A M A*. 1.983; 250: 1187-1191.

140.- Guarda LA, Luna MA, Smithetal JL y cols. Acquired Immune Deficiency syndrome: Postmortem findings. *Am J Clin Pathol*. 1.984; 81: 549-557.

141.- Bach MC, Bagwell SP, Knapp NP, y cols. 9-(1,3 dihydroxy-2-propoxymethyl) guanine for cytomegalovirus infections in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med*. 1.985; 103: 381-382.

142.- Collaborative DHPG treatment study group. Treatment of serious Cytomegalovirus infections with 9-(1,3-dihydroxy-2-propoxymethyl) guanine in patients with AIDS and other immunodeficiencies. *N Engl J Med*. 1.986; 314: 801-805.

143.- Masur H, Lane HC, Palestine A y cols. Effect of 9-(1,3 dihydroxy-2-propoxymethyl) guanine on serious cytomegalovirus disease in eight immunosuppressed homosexual men *Ann Intern Med*. 1.986; 104: 41-44.

144.- Lyon L, McCormick W, Schochert S. Progressive multifocal leukoencephalopathy. *Arch Intern Med*. 1.971; 128: 420- 426.

145.- Narayan O, Penney JR, Johnson RT. Etiology of progressive multifocal leukoencephalopathy. Identification of papovavirus. *N Engl J Med*. 1.973; 289:1278-1282.

146.- Hogan TF, Padgett BL, Walker DL. Survey of human polyomavirus (JC,BK) infections in 139 patients with lung cancer, breast cancer melanoma or lymphoma. En Sever JL, Maden DL (eds): *Polyomaviruses and Human Neurological Diseases*. N.York, Alan R., Liss Co.1.983, pp 311-324.

147.- Snider WD, Simpson DM, Nielsen S y cols. Neurologi-

cal complications of the acquired immunodeficiency syndrome. Analysis of 50 patients. *Ann Neurol.* 1.983; 14: 403.

148.- Richardson EP. Progressive multifocal leukoencephalopathy, En Vinken PJ, Bruyn GW(eds): Handbook of Clinical Neurology, vol 9, Multiple Sclerosis and other Demyelinating Diseases. Amsterdam, North-Holland Publishing Co. 1970 pp 485-499.

149.- Quinnan GV, Masur H, Rook AH, y cols. Herpesvirus infections in the acquired immunodeficiency syndrome. *J A M A.* 1.984; 252: 72-77.

150.- Birx DL, Redfield RR, Tosato G. Defective regulation of Epstein-Barr virus infection in patients with acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) or AIDS-related disorders. *N Engl J Med.* 1.986; 314: 874-879.

151.- Kwan H, Kaufman HW. Acid-fast bacilli with cytomegalovirus and herpes virus inclusions in the skin of an AIDS patient. *Am J Clin Pathol.* 1.986; 85: 236-238.

152.- Smith PD, Macher AM, Bookman MA, y cols. Salmonella typhimurium enteritis and bacteremia in the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med.* 1.985; 102: 207-209.

153.- Glaser JB, Morton-Kute L, Berger SR, y cols. Recurrent Salmonella typhimurium bacteremia associated with the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med.* 1.985; 102: 189-193.

154.- Jacobs JL, Gold JWM, Murray HW, y cols. Salmonella infections in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med.* 1.985; 102: 186-188.

155.- Fischl MA, Dickinson GM, Sinave C, y cols. Salmonella bacteremia as a manifestation of acquired immunodeficiency

syndrome. Arch Intern Med. 1.986; 146: 113-115.

156.- Garbowit DL, Alsip SG, Griffin FM. Hemophilus influenzae bacteremia in a patient with immunodeficiency caused by HTLV-III. N Engl J Med. 1.986; 314: 56.

157.- Polsky B, Gold JWM, Whimbey E y cols. Bacterial pneumonia in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. Ann Intern Med. 1.986; 104: 38-41.

158.- Real FX, Gold JWM, Krown SE y cols. Listeria monocytogenes bacteremia in the acquired immunodeficiency syndrome. Ann Intern Med. 1.984; 101: 883-884.

159.- Schlanger G, Lutwick LI, Kurzman M, y cols. Sinusitis caused by Legionella pneumophila in a patient with the acquired immune deficiency syndrome. Am J Med. 1984;77: 957-960.

160.- Costel EE, Wheeler AP, Gregg CR. Campylobacter fetus ssp fetus cholecystitis and relapsing bacteremia in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. South Med J. 1.984; 77: 927-928.

161.- Wheeler AP, Gregg CR: Campylobacter bacteremia, cholecystitis in the Acquired Immunodeficiency Syndrome. Ann Intern Med. 1.986; 105: 804.

162.- Kaplan MH, Armstrong D, Rosen P. Tuberculosis complicating neoplastic disease. A review of 201 cases. Cancer. 1.974; 33: 850.

163.- Feld R, Bodey GP, Grochel D. Mycobacteriosis in patients with malignant disease. Arch Intern Med. 1.976; 136: 67-69.

164.- Ortbals DW, Marr J. A comparative study of tubercu-

lous and other Mycobacterial infections and their associations with malignancy. *Am Rev Respir Dis.* 1.978; 117: 39-45.

165.- Lundin AP, Adler AJ, Berlyne GM, y cols. Tuberculosis in patients undergoing maintenance hemodialysis. *Am J Med.* 1.979; 67: 597-602.

166.- Anonimo. Tuberculosis in chronic renal failure. *Lancet.* 1.980; i: 909-910.

167.- Pasculle AW, Kapadia SB, Monto HoM. Tuberculous bacillemia, hyperpyrexia; and rapid death. *Arch InternMed.* 1.980; 140: 426-427.

168.- Mcwhinney N, Khan O, y Wilians G. Tuberculosis in patients undergoing maintenance hemodialysis and renal transplantation. *Br J Surg.* 1.981; 68: 408-411.

169.- Clinico-pathologic conference. Fulminant pneumonia and death in an immunocompromised woman. *Am J Med.* 1.983; 75: 1043-1052.

170.- Del Castillo Rueda A, Anaya Fernández Lomana F, Valderrábano Quintana F. Tuberculosis activa en enfermos en hemodiálisis. *Med Clin (Barc).* 1983; 81: 545-546.

171.- March Ayuela P. Tuberculosis activa en enfermos en hemodiálisis. *Med Clin (Barc).* 1.983; 81: 545-546.

172.- Navari RM, Sullivan KM, Springmeyer SC, y cols. Mycobacterial infections in marrow transplant patients. *Transplantation.* 1.983; 36: 509-513.

173.- Ruiz Manzano J, y Vidal Pla R. Tuberculosis activa en pacientes en hemodiálisis. *Med Clin (Bar).* 1.983; 81: 499.

174.- Forslund T, Laasonen L, Hôckerstedt K. Tuberculosis de colon in a kidney transplant patient. *Acta Med Scand.* 1.984; 215: 181-184.

175.- Moré Monreal J, Ayats Aubert R y Sambeat Domenech MA. Anemia refractaria sideroblástica con exceso de blastos y tuberculosis miliar. *Med Clin (Bar.)*. 1.984; 83: 24-26.

176.- Peters TG, Reiter CHG, y Boswell RL. Transmission of tuberculosis by kidney transplantation. *Transplantation.* 1.984; 38: 514-516.

177.- Sala Rodo M, Vernet Vernet M, Oliveira C y cols. Tuberculosis y pseudoleucemia. *Med Clin (Barc)* 1.984; 82: 90.

178.- Malhotra KK, Dash SC, Dhawan IK, y cols. Tuberculosis and renal transplantation, observations from an endemic area of tuberculosis. *Postgrad Med J* 1.986; 62: 359-362.

179.- Wolinsky E. State of art Nontuberculous Mycobacteria and associated Diseases. *Am. Rev Respir Dis.* 1.979; 119: 107-159.

180.- Timpe A, Runyon EH. Classics in infectious diseases. The relationship of "atypical" acido-fast bacteria to human disease: a preliminary report. *J Labo Clin Med.* 1.954; 44: 202-209.

181.- Ramakrishnan CV. Pulmonary disease due to atypical-mycobacteria: a retrospective study from South india. *Rev Infect Dis.* 1.981; 3: 1090-1092.

182.- Wolinsky E. When is an infection disease?. Editorial *Rev Infect Dis.* 1.981; 3: 1025-1027.

183.- Parker BC, Ford MA, Graft H, y cols. Epidemiology of infection by nontuberculous mycobacteria. IV Preferential aerosolization of *Mycobacterium intracellulare* from natural waters. *Am Rev Respir Dis.* 1.983; 128: 652-656.

184.- Martin Scapa C, Gomez Criado C, Ortega Nuñez A y Bouza E. Disseminated infection caused by *Mycobacterium kansasii* presenting as fever of unknown origin.(Letter). *Eu J Clin Microbiol.* 1.987; 6: 502-502.

185.- Rodgers RF, Applebaum MI y Heredia RM. Esophageal compression in association with silicosis and *M. avium-intracellulare*. *Chest.* 1.979; 76: 701-703.

186.- Bone M y Stableforth D. Miliary infection due to *Mycobacterium avium-intracellulare*. *Tubercle.* 1.981; 62: 211-213.

187.- Christensen EE, Dietz GW, Ahn CH y cols. Initial roentgenographic manifestations of pulmonary *Mycobacterium tuberculosis*, *M. kansasii* and *M. intracellulare* infections. *Chest.* 1.981; 80: 132-136.

188.- Engel HW, Berwald LG, Lindeboom BW, y cols. *Mycobacterium kansasii* Infections in the Netherlands: A brief Summary. *Rev Infect Dis.* 1.981; 3: 1024.

189.- Zvetina JR, Difilippo NM, Ali MM, y cols. *Mycobacterium kansasii* empyema. *Tubercle.* 1.981; 62: 135-138.

190.- Ahn CH, McLarty JW, Ahn SS, y cols. Diagnostic criteria for pulmonary disease caused by *Mycobacterium kansasii* and *Mycobacterium intracellulare*. *Am Rev Respir Dis.* 1.982; 125: 388-391.

191.- Banks J, Hunter AM, Campbell IA, y cols. Pulmonary infection with *M. Kansasii* in Wales 1.970-9: review of treatment and response. *Thorax*. 1.983; 38: 271-274.

192.- Gorse GJ, Fairshter RD, Friedly G y cols. Nontuberculous mycobacterial disease. Experience in a Southern California Hospital. *Arch Intern Med*. 1.983; 143: 225-228.

193.- Zvetina JR, Demos TC, Maliwan N, y cols. Pulmonary cavitations in *Mycobacterium kansasii*: distinctions from *M. tuberculosis*. *Am J Radiol*. 1.984; 143: 127-130.

194.- Des Prez RM, Goodwin Jr RA. *Mycobacterium tuberculosis*. En: Principles and Practice of infectious diseases. 2th edition. Ed: MANDELL GL, Douglas RG, Bennett JE. A Wiley Medical Publication. John Willy & Sons. 1.985; chap 210: 1383-1406.

195.- Maliwan N, Zvetina JR. Pulmonary mycetoma following *Mycobacterium kansasii* infection. Report of seven cases. *Arch Intern Med*. 1.985; 145: 2180-2183.

196.- Nontuberculous Mycobacterial infection. Radiological case. *Am J Dis Child*. 1.985; 139: 608.

197.- Sommers HM, Good RC. *Mycobacterium*. En: Manual of clinical microbiology. 4th edition. Lennette EH, Balows A, Hausler WJ, Shadomy HJ (ed). American Society for Microbiology. Washinton DC. 1.985; chap 22: 216-248.

198.- Smith DW. *Mycobacterium tuberculosis* and atypical mycobacteria . En: *Mycobacteria infectious diseases and Medical Microbiology*. 2nd edition. Ed: Braude AI, Davis ChE, Fierer J. WB Saunders Company. 1.986; cap 210: pp 364-371.

198 bis.- Aguado JM, Gómez-Garcés JL, Manrique A y cols.

Pulmonary infection by *Mycobacterium gordonae* in an Immunocompromised Patient. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1987; 7: 261-263.

199.- Saphykhajon P, Mukhopadhyay ChC. *Mycobacterium kansasii*. Arthritis of the Knee Joint. *Am J Dis Child.* 1977; 131: 573-575.

200.- Carrol SR, Newson SW y Jenner JR. Treatment of septic arthritis due to *Mycobacterium kansasii*. *Br Med J.* 1984; 289: 591-592.

201.- Leader M, Revell P, y Clarke G. Synovial infections with *Mycobacterium kansasii*. *Ann Rheum Dis.* 1984; 43: 80-82.

202.- Love GL, and Melchor E. *Mycobacterium terrae* tenosynovitis. *J. Hand Surg.* 1985; 10: 730-732.

203.- Cole GW, y Gebhard J. *Mycobacterium avium* infection of the skin resembling lepromatous leprosy. *Br J Dermatol.* 1979; 101: 71-74.

204.- Yip SY, Wu PC, Chan WC, y cols. Tuberculoid cutaneous infection due to a niacin-positive *M. chelonae*. *Br J Dermatol.* 1979; 101: 63-69.

205.- Bolivar R, Satterwhite TK, Floyd M. Cutaneous lesions due to *Mycobacterium kansasii*. *Arch Dermatol.* 1980; 116: 207-208.

206.- Beyt BE, Ortals DW, Santa Cruz DJ y cols. Cutaneous Mycobacteriosis: Analysis of 34 cases with a new classification of the disease. *Medicine.* 1981; 60: 95-109.

207.- Hagmar B, Kutti J, Lundin P, y cols. Disseminated infection caused by *Mycobacterium kansasii*. *Acta Med*

Scand. 1.969; 186: 93-99.

208.- Gruhl VR y Reese MH. Disseminated Atypical Mycobacteria Disease Presenting as "Leukemia. *Am J Clin Pathol.* 1.971; 55: 206-211.

209.- Engstrom PF, Dewey GC, Barret O. Disseminated Mycobacterium kansasii Infection. Successful treatment of a patient with pancytopenia. *Am J Med.* 1.972; 52: 533-537.

210.- McGeady SJ y Murphey SA. Disseminated Mycobacterium kansasii Infection. *Clin Immunol-Immunopathol.* 1.981; 20: 87-98.

211.- Case records of the Massachusetts General Hospital Case 52-1982. *N Engl J Med.* 1.982; 307: 1693-1700.

212.- Carpenter JL, Troxell M, Wallace Jr RJ. Disseminated disease due to *M. chelonae* treated with amikacin and Cefoxitin. Absence of killing with either agent and possible role of granulocytes in clinical response. *Arch Intern Med.* 1.984; 144: 2063-2065.

213.- Palmer JA, Watanakunakorn ChC. Mycobacterium kansasii pericarditis. *Thorax.* 1.984; 39: 876-877.

214.- Horsburgh CR, Mason III UG, Farhi DC, y cols. Disseminated infection with Mycobacterium avium-intracellulare. A report of 13 cases and a review of the literature. *Medicine (Baltimore).* 1.985; 64: 36-48.

215.- Greene JB, Sidhu GS, Lewin S, y cols. Mycobacterium avium-intracellulare: A cause of disseminated life-threatening infection in homosexuals and drug abusers. *Ann Intern Med.* 1.982; 97: 539-546.

216.- Berlin OGW, Zaskowski P, Brukner DA, y cols. Mycobacterium avium: A pathogen of patients with AIDS. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1.984; 2: 213-218.

217.- Kiehn TE, Edwards FF, Brannon P, y cols. Infections caused by Mycobacterium avium complex in immunocompromised patients: diagnosis by blood culture and fecal examination, antimicrobial susceptibility tests, and morphological and seroagglutination characteristics. *J Clin Microbiol.* 1.985; 21: 168-173.

218.- Kiehn TE. Mycobacterium avium complex infection in patients with AIDS. *Clin Microbiol Newslett.* 1986; 15: 109-111.

219.- Pitchenik AE, Cole C, Russell BW, y cols. Tuberculosis, atypical mycobacteriosis, and the acquired immunodeficiency syndrome among Haitian and Non-Haitian patients in South Florida. *Ann Intern Med.* 1.984; 101: 641-645.

220.- West BC. Disseminated infection due to M avium-intracellulare complex. *Chest.* 1.984; 85: 710-711.

221.- Orenstein MS, Tavitian A, Yonk B, y cols. Granulomatous involvement of the liver in patients with AIDS. *Gut.* 1.985; 26: 1120-1125.

222.- Case record of the Massachusetts General hospital case 48-1986. *N Engl Med.* 1.986; 315: 1469-1477.

223.- Duncanson FP, Hewlett JrD, Maayan S, y cols. Mycobacterium tuberculosis infection in Acquired Immunodeficiency Syndrome. A review of 14 patients. *Tubercle.* 1.986; 67: 295-302.

224.- Hawkins CC, Gold JWM, Whimbey E, y cols. Mycobacterium avium complex infections in patients with the acqui-

red immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med.* 1986; 105: 184-188.

225.- Noel G, Morisset R, Toma E, y cols. Mycobacteriosis and AIDS: Experience in an University Hospital 1982-1985. II International conference on AIDS. Abstract n° 310; pp 55. Paris 1986.

226.- Farhi DC, Mason UG, Horsburgh CR. Pathologic findings in disseminated *Mycobacterium avium*-intracellulare infection. A report of 11 cases. *Am J Clin Pathol.* 1986; 85: 67-72.

227.- Macher AM, Kovacs JA, Gill V, y cols. Bacteremia due to *Mycobacterium avium*-intracellulare in the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med.* 1983; 99: 782-785.

228.- Roberts GD, Goodman NL, Heifets y cols. Evaluation of the BACTEC Radiometric Method for recovery of mycobacteria and drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis* from acid-fast smear-positive specimens. *J Clin Microbiol.* 1983; 18: 689-696.

229.- Siddiqi SH, Hwangbo CHC, Silcox y cols. Rapid radiometric methods to detect and differentiate *Mycobacterium tuberculosis*/ *M. bovis* from other mycobacterial species. *Am Rev Respir Dis.* 1984; 130: 634-640.

230.- Gill VJ, Park ChC, Stock F, y cols. Use of lysis-centrifugation (Isolator) and radiometric (BACTEC) blood culture systems for the detection of *Mycobacteremia*. *J Clin Microbiol.* 1985; 22: 543-546.

231.- Steadham JE, Stall SK y Simmank JL. Use of the BACTEC system for drug susceptibility testing of *Mycobacterium tuberculosis*, *Mycobacterium kansasii* and *Mycobacte-*

rium avium-intracellulare. Diagn Microbiol Infect Dis. 1.985; 3: 33-40.

232.- Gangadharam PR, Candler ER. Activity of some antileprosy compounds against Mycobacterium intracellulare in vitro Am Rev Respir Dis; 1.977; 115: 705-708.

233.- Lester TW. Drug-resistant and Atypical Mycobacterial Disease. Bacteriology and treatment. Arch Intern Med, 1.979; 139: 1399-1401.

234.- Bailey WC. Treatment of atypical Mycobacterial disease. Chest 1.984; 84/5: 625-628.

235.- Heifets LB, Iseman MD. Determination of in vitro susceptibility of Mycobacteria to Ansamycin. Am Rev Respir Dis. 1.985; 132: 710-711.

236.- Nozawa RT, Kato H, Yokota T, y cols. Susceptibility of intra and extracellular M. avium-intracellulare to Cephen antibiotics. Antimicrob Agents Chemother. 1.985; 27: 132-134.

237.- Clague HW, El-Ansary EH, Hopkins CA, y cols. Pulmonary infection with opportunist mycobacteria on Merseyside 1.974-1.983. Postgrad Med J. 1.986;62: 363-368.

238.- Eng RHK, Forrester C, Smith JM y cols. Mycobacterium xenopi infection in a patient with the acquired immunodeficiency syndrome. Chest. 1984; 86: 145-147.

239.- Tecson FT, Bright JL. M. xenopi and the Acquired Immunodeficiency Syndrome (AIDS). Ann Intern Med. 1.984; 100: 461-462.

240.- Simor AE, Salit IE, Vellend H. The role of M. xenopi

in human diseases. *Am Rev Respir Dis.* 1.984; 129: 435-438.

241.- López Jimenez, Barbado Hernández FJ, Mostaza JM. Infección diseminada por *M. kansasii* en el Síndrome de Inmunodeficiencia Adquirida. *Enf Infec Microbiol Clin.* 1.986; 4: 283-286.

242.- Sherer R, Sable R, Sonnenberg M, y cols. Disseminated infection with *Mycobacterium kansasii* in the Acquired Immunodeficiency Syndrome. *Ann Intern Med.* 1.986; 105: 710-712.

243.- Chan J, McKittrick JC y Klein RS. *Mycobacterium gordonae* in the acquired immunodeficiency syndrome. *Ann Intern Med.* 1984; 101: 400.

244.- Males BM, West TE, Bartholomew WR. *Mycobacterium haemophilum*. Infection in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. *J Clin Microbiol.* 1987; 25: 186-190.

245.- Centers for Disease Control. Tuberculosis-United States, 1983. *MMWR.* 1.984; 33: 77-78.

246.- Pitchenik AE, Fischl MA. Disseminated tuberculosis and the acquired immunodeficiency syndrome. Letter to the editor. *Ann Intern Med.* 1.983; 97: 112.

247.- Aguado García JM, Castrillo García JM. Síndrome de inmunodeficiencia adquirida para países pobres. Tuberculosis diseminada como infección oportunista en drogadictos. *Med Clin (Barc).* 1.985; 86: 132-133.

248.- De La Loma A, Manrique A, Rubio R et al. Generalised tuberculosis in a patient with acquired immunodeficiency syndrome. *J Infect.* 1.985; 10: 57-59.

249.- Cosin J, Martin-Scapa C, Wilhelmi I y cols. Infec-

tions caused by M. tuberculosis in patients with AIDS. Hospital Provincial de Madrid. Spain. Abstract nº 303, pp 54. II International Conference on AIDS. Paris. 1986

250.- Carrasco JI. El método estadístico en la investigación . 2ª ed. 1983.

251.- Martín Jimenez T, Montes Santiago J, Martín MF y cols. Síndrome de inmunodeficiencia adquirida (SIDA) en varón homosexual con tuberculosis e hipoplasia medular. Med Clin (Barc). 1.985; 85: 37-40.

252.- Palencia Horrajon A, Rubio Sanz L. Síndrome de inmunodeficiencia adquirida a propósito de dos casos. Med. Intensiva. 1.985; 9: 34-37.

253.- Marquez Solero M, Santos Gonzalez J, Rivero Roman A. Tuberculosis y síndrome de inmunodeficiencia adquirida. Carta al Director. Med Clin (Barc) 1986; 87: 481.

254.- Nieto García A, Calvo Catala J, Navarro Ibañez V. Tuberculosis diseminada y SIDA en mujer heroína. Carta al Director. An Med Intern. 1.987; 4: 101.

255.- Pérez Vidal R, Soriano Gimenez JC, Torné Chacot J. Tuberculosis y síndrome de inmunodeficiencia adquirida. Carta al Director. Med Clin (Barc). 1.987; 88: 563.

256.- Reichman LB, O'Day R. Tuberculosis infection in a large urban population. Am Rev Respir Dis. 1.978; 117: 705-712.

257.- Ayvazian LF. Tuberculosis and drug dependence Arch Intern Med. 1.979; 139: 1317.

258.- Duncanson P, Maayan S, Hewlett D. Tuberculosis an harbinger for the acquired immunodeficiency syndrome, abs-

tract. Clin Res. 1.983; 31: 691.A

259.- Maayan S, Wormser GP, Hewlett D y cols. Acquired immunodeficiency syndrome (AIDS) in an economically disadvantaged population. Arch Intern Med. 1.985; 145: 1607-1612.

260.- Guarner J, del Rio C, Slade B. Letter to the editor. Tuberculosis as a manifestation of de acquired immunodeficiency syndrome. J A M A. 1986; 256: 3092.

261.- Sunderam G, Mc Donald RJ, Maniatis T y cols. Tuberculosis as manifestation of the acquired immunodeficiency syndrome (AIDS). J A M A. 1.986; 256: 362-366.

262.- Brody JM, Miller DK, Zeman RK, y cols. Gastric tuberculosis. A manifestation of acquired immunodeficiency syndrome. Radiology. 1.986; 159/2: 347-348.

263.- Center for Disease Control. Tuberculosis in United States, 1.985, and possible impact of the infection by T-lymphotropic human virus type III/LAV. MMWR. 1.986; 5: 1-8.

264.- Center for Disease Control. Tuberculosis and Acquired immunodeficiency syndrome. New York City. MMWR. 1987; 785-795.

265.- Pinching AJ. The acquired immunodeficiency syndrome with special reference to tuberculosis. Tubercle. 1.987; 68: 65-69.

266.- Handwerker S, Mc Kinley FW, Seie R, y cols. Tuberculosis and AIDS in a New York Hospital. Beth Israel Medical Center. New York. In II International Conference on AIDS. Paris. 1.986(abstract 302; pag 54).

267.- Louie E, Rice LB, Holzman RS. Tuberculosis in Non-Haitian patients with acquired immunodeficiency syndrome. *Chest*. 1986; 90: 542-545.

268.- Center for Disease Control. Tuberculosis and AIDS. Connecticut. *J A M A*. 1987; 257: 1705-1706.

269.- Center for Disease Control. Diagnosis and management of Mycobacterial infection and disease in persons with human Immunodeficiency virus infection. Diagnosis and treatment. *Ann Intern Med*. 1987; 106: 254-256.

270.- Ausina V. Micobacterias e infecciones por virus de la inmunodeficiencia humana. *Enf Infec J Microbiol Clin* . 1987; 5: 257-259.

271.- Pitchenick AE, Robinson HA. The radiographic appearance of tuberculosis in patients with the acquired immune deficiency syndrome (AIDS) and Pre-AIDS. *Am Rev Respir Dis*. 1985; 231: 393-396.

272.- Guembe P, Galvez F, Escalona J y cols. Aspectos radiológicos de la tuberculosis pulmonar en el síndrome de inmunodeficiencia adquirida. MDI (Monografías de diagnóstico por imagen). 1987; 1: 31-48.

273.- Clough MC: The cultivation of tubercle bacilli from the circulating blood in miliary tuberculosis. *Am Rev Tuberc*. 1917;1: 598-621.

274.- Stead WW, Bates JH. Evidence of "silent" bacillemia in primary tuberculosis. *Ann Intern Med*. 1971; 74: 559-561.

275.- Berlin OGW, Zahowski Ph, Bruckner DA, y cols. New bifasic culture system for isolation of Mycobacteria from blood of patients with AIDS. *J Clin Microbiol*. 1984; 20: 572-574.

276.- Pierce PhF, DeYoung DR y Roberts GD. Mycobacteremia and the new blood culture systems. *Ann Intern Med.* 1983; 99: 786-789.

277.- Laszlo A, Handzel V. Radiometric diagnosis of Mycobacterium. *Eur J Clin Microbiol.* 1986; 5: 152-155.

278.- Gill VJ, Stock F. Detection of Mycobacterium avium-intracellulare in blood cultures using concentrated and un concentrated blood in conjunction with a radiometric detection system. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 1987; 6: 119-123.

279.- Barnes PF, Arevalo C. Six cases of Mycobacterium tuberculosis Bacteremia. *J Infect Dis.* 1987; 156: 377-379.

280.- Laguna Cuesta F, Martinez R, March J y cols. Micobacteriemia tuberculosa en enfermos por HIV. *Enf Infec Microbiol Clin.* 1988; 6: 32-55.

281.- Martin-Sapa C, Cosin-Ochaita J, Gómez-Pastor A y cols. Micobacteriemia. Abstract CC-1. Primera Reunión del Grupo Español de Micobacteriología. Murcia, Febrero 1988.

282.- Brown SM, Stimel B, Tanb RN. Immunologic disfunction in heroin addicts. *Arch Intern Med.* 1974; 134: 1001-1004.

283.- Mc Donough RJ, Madden JJ, Falek A y cols. Alteration of T and null lymphocyte frecuencies in the peripheral blood of human opiate addicts: in vivo evidence for opiate receptor sites on T lymphocytes. *J Immunol.* 1980; 125: 2539-2543.

284.- Pitchenik AE, Fischl MA, Walls KW. Evaluation of cerebral mass lessions in acquired immunodeficiency syndrome. Letter to the editor. *N Engl J Med.* 1983; 308: 1455.

285.- Case records of the Massachusetts general hospital Weekly. Clinical pathological exercises. Case 2-1.986. *N Engl J Med.* 1.986; 314/3: 167-174.

286.-Bishburg E, Sunderam G, Reichman LB y cols. Central nervous system tuberculosis with the acquired immunodeficiency syndrome and its related complex. *Ann Intern Med.* 1.986; 195: 210-213.

287.- Freemann ML, Talbot GH. Nongranulomatous Mycobacterial Lymphadenitis in homosexual patients. *Ann Meeting Abstracts.* 1.983; 48: 27A.

288.- Cohen RJ, Samoszuk MK, Busch D, y cols. Occult infections with *M. intracellulare* in bone-marrow biopsy specimens from patients with AIDS. *N Eng J Med.* 1.983; 308: 1475-1476.

289.- Sohn CC, Schorff RW, Kliewer KE, y cols. Disseminated *M. avium-intracellulare* infection in homosexual men with Acquired cell-mediated immunodeficiency: A histologic and immunologic study of two cases. *Am J Clin Pathol.* 1.983; 79: 247-252.

290.- Kahn JA, Saltzman B, Klim RS y cols. Hepatic disorders in the acquired immune deficiency syndrome. A clinical and pathological study. *Am J Gastroenterol.* 1986;81: 1145-1148.

291.- Margolis MT,. Specific anergy in tuberculosis.(Letter) *N Engl J Med.* 1.983; 309: 1388.

292.- Aziz S y Haq Gh. The Mantoux reaction in pulmonary tuberculosis. *Tubercle.* 1.985; 66: 133-136.

293.- Schofield PE. Abdominal tuberculosis. *Gut.* 1.985; 26: 1275-1278.

294.- Goldman KP. AIDS and tuberculosis. Br Med J. 1.987; 295: 511-512.

295.- Maviglit GM, Binder RA y Crosby WH. Disseminated intravascular coagulation in miliary tuberculosis. Arch Intern Med. 1.972; 130: 388-389.

296.- Manzella JP, Kellidog J y Sonstead JK. Mycobacterium tuberculosis and bacteriemia and disseminated intravascular coagulation. J A M A. 1.985; 254: 2741.

297.- Rothenberg R, Woelfel BA, Stoneburner R y cols. Survival with acquired immune deficiency syndrome. Experience with 3.833 cases in New York city. N Engl J Med. 1987; 317: 1297-1302.

298.- Cayl  JM, Jans  J y Botella E. Morbibilidad de la tuberculosis en Espa a. Carta la editor Med Clin (Barc). 1.987; 89: 574.

299.- Garcia P ez JM, Yebra Bango M. Tuberculosis en Espa a. Med Clin (Bar). 1.987; 88: 300.

300.- Rey Calero. Microbilolog a e inmunolog a de las enfermedades infecciosas. Marban (ed). 1974; cap44:393-406.

301.- Garc a Rodr guez JA. Mycobacterium. En: Microbilog a y Parasitolog a M dica. Pumarola A. Rodr guez Torres JA. Pumarola Angulo G. Salvat (ed). 1.984; Cap 74: 485-507.

302.- Simon HB. Mycobacterial and Nocardial infections in the compromised host. En: Clinical approach to infection in the compromised host. Ed: Rubin RH and Young LS. Plenum Medical Book-Company. New York and London, 1986; cap 8: 229-267.

303.- Wolinsky E. Disease due to Mycobacteria tuberculosis and other Mycobacteriosis. Cecil Text Book, 17th edition, Wyngaarden and Smith, 1985; cap 298: 1620-1634.

304.-Bergey 'S manual of systemic bacteriology. Sneath PHA Mair NS, Sharpe ME. (eds). 1.986; vol 2, cap.16: 1435-1457.

305.- Runyon EH. Anonymous mycobacteria in pulmonary disease. Med Clin North Am. 1959; 43: 273-285.

306.- Casals Román M. Bacteriología de la Tuberculosis y Micobacteriosis. Editorial AC. 1983. Madrid.

307.- Ortega Calderon A, March Arbos J. Algunos aspectos sobre tuberculina y sus unidades. Materiales y Reactivos S.A. 1.981.

308.- Pourie PB. The prevalence and annual rate of tuberculosis infection in South Africa. Tubercle, 1.981; 64: 181-192.

309.-Judson FN, Sbarbaro JA, Tapy JM, Chon DL. Tuberculosis Screening. Evaluation of a food handlers'program. Chest. 1983; 83: 879-882.

310.-Snider DE, Long MW, Cross PS y cols. Six months isoniazid-Rifampicin therapy for pulmonary tuberculosis. Am Rev Respi Dis. 1.984; 129: 573-579.